



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

**INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**

Capacidad Antioxidante y Efecto Antimicrobiano
en Extractos de Frutas y Verduras.

TESIS

Que para obtener el título de
Licenciada en Nutrición

P R E S E N T A

P.L.N. Méndez Velázquez Elsa Nallely

Bajo la Dirección de:

Dr. Luis Delgado Olivares

Área Académica de Nutrición

UAEH-ICSa.



Pachuca, Hgo., Agosto 2014



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN



De acuerdo con el artículo 134 del Reglamento de Control Escolar vigente, el jurado de examen recepcional designado, autoriza para su impresión la Tesis titulada

"Capacidad Antioxidante y Efecto Antimicrobiano en Extractos de Frutas y Verduras."

Que para obtener el Título de Licenciado de Nutrición sustenta el Pasante

C. Elsa Nallely Méndez Velázquez.

ATENTAMENTE

**Pachuca, Hidalgo, 28 de Agosto del 2014
"Amor, Orden y Progreso"**

PRESIDENTE	DR. ERNESTO ALANÍS GARCÍA
SECRETARIO	DR. JOSÉ ALBERTO ARIZA ORTEGA
PRIMER VOCAL	DRA. NELLY DEL SOCORRO CRUZ CANSINO
SEGUNDO VOCAL	DRA. ESTHER RAMÍREZ MORENO
TERCER VOCAL	DR. LUIS DELGADO OLIVARES
PRIMER SUPLENTE	DR. JOSÉ DE JESÚS MANRÍQUEZ TORRES
SEGUNDO SUPLENTE	M. EN C. TEODORO SÚAREZ DIEGUEZ

Se muestran las firmas manuscritas de los miembros del jurado de examen recepcional, correspondientes a los nombres listados en la tabla adjunta. Las firmas están escritas sobre líneas horizontales.

ÍNDICE

Índice de Figuras.....	IV
Índice de Tablas.....	V
Abreviaturas.....	VI
Resumen.....	1
Summary.....	2
1 Marco teórico.....	3
1.1 Beneficios del consumo de frutas y verduras.....	3
1.2 Propiedades antioxidantes de frutas y verduras.....	4
1.2.1 Aguacate.....	5
1.2.2 Calabaza.....	6
1.2.3 Verdolaga.....	7
1.2.4 Guayaba.....	7
1.2.5 Papaya.....	8
1.2.6 Manzana.....	9
1.2.7 Tuna.....	9
1.3 Antioxidantes como mecanismo de defensa.....	10
1.3.1 Tipos de antioxidantes.....	12
1.4 Estrés oxidativo.....	13
1.4.1 Radicales libres (RL) y especies reactivas de oxígeno (ERO).....	13
1.4.2 Causas, mecanismo de acción y tipos de estrés oxidativo.....	14
1.5 Antioxidantes con capacidad antimicrobiana.....	15
1.5.1 <i>Escherichia coli</i> y su relación con los alimentos.....	16
1.5.2 <i>Staphylococcus aureus</i> y su relación con los alimentos.....	17
1.5.3 <i>Aspergillus niger</i> y su relación con los alimentos.....	18
1.6 Mecanismo de acción de compuestos antioxidantes como antimicrobianos.....	19

2 Problema de investigación	20
3 Justificación.....	21
4 Objetivos	22
4.1 Objetivo General	22
4.2 Objetivos Específicos	22
5 Hipótesis.....	22
6 Metodología.....	23
6.1 Preparación de las muestras de estudio	24
6.2 Extracción de compuestos Antioxidantes.....	25
6.3 Compuestos antioxidantes	26
6.3.1 Contenido de compuestos fenólicos totales.....	26
6.3.2 Determinación de ácido ascórbico.....	26
6.4 Actividad antioxidante	27
6.4.1 Actividad antioxidante mediante ABTS ^{•+}	27
6.4.2 Actividad antirradical por el método DPPH [•]	27
6.4.3 Actividad quelante.....	28
6.5 Actividad Antimicrobiana.....	28
6.5.1 Extracción de compuestos Antimicrobianos	28
6.5.2 Cepas Bacterianas y medios de cultivo	29
6.5.3 Determinación de actividad antimicrobiana	29
6.6 Análisis estadístico.....	31
7 Resultados y discusión.....	32
7.1 Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT).....	32
7.2 Concentración de ácido ascórbico	35
7.3 Actividad antioxidante por método ABTS ^{•+}	37
7.4 Actividad antioxidante por método DPPH [•]	39

7.5 Actividad quelante.....	42
7.6 Actividad antimicrobiana	43
8 Conclusiones.....	45
9 Referencias	46

Índice de Figuras

Figura 1.- Estructuras químicas de compuestos antioxidantes.....	4
Figura 2.- Aguacate (<i>Persea americana var hass</i>).....	6
Figura 3.- Calabaza italiana (<i>Cucurbita pepo L.</i>).....	6
Figura 4.- Verdolaga (<i>Portulaca oleracea</i>).....	7
Figura 5.- Guayaba (<i>Psidium guajava</i>).....	8
Figura 6.- Papaya (<i>Carica papaya var maradol</i>)	8
Figura 7.- Manzana (<i>Pyrus malus var red delicious</i>).....	9
Figura 8.- Tuna verde y púrpura (<i>Opuntia ficus-indica</i>).....	10
Figura 9.- Interacción de radicales libres con antioxidante.....	11
Figura 10.- Daños causados por estrés oxidativo.....	14
Figura 11.- <i>Escherichia coli</i>	17
Figura 12.- <i>Staphylococcus aureus</i>	18
Figura 13.- <i>Aspergillus niger</i>	19
Figura 14.- Diseño metodológico.....	24
Figura 15.- Contenido de compuestos fenólicos totales en frutas y verduras de consumo común.....	33
Figura 16.- Contenido de Ácido ascórbico en frutas y verduras de consumo común.....	35
Figura 17.- Actividad antioxidante por método ABTS ^{•+} en frutas y verduras de consumo común.....	37
Figura 18.- Actividad antioxidante por método DPPH [•] en frutas y verduras de consumo común.....	40

Índice de Tablas

Tabla 1.- Antioxidantes y sus fuentes alimentarias.....	4
Tabla 2.- Nombre común y científicos de las frutas y vegetales empleados en el estudio.....	25
Tabla 3.- Comparación de los valores obtenidos de compuestos fenólicos totales con otros estudios publicados.....	34
Tabla 4.- Comparación de los valores obtenidos de ácido ascórbico con otros estudios publicados.....	36
Tabla 5.- Comparación de los valores obtenidos de actividad antioxidante por método ABTS ^{•+} con otros estudios publicados.....	38
Tabla 6.- Comparación de los valores obtenidos de actividad antioxidante por método DPPH [•] con otros estudios publicados.....	41
Tabla 7.- Análisis del efecto antimicrobiano presente en los extractos vegetales.....	44

Abreviaturas

AA: Ácido ascórbico

ABTS^{•+}: (2,2'-azinobis [3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico)

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

bs: Base seca

bh: Base húmeda

CFT: Compuestos fenólicos totales

Cu⁺²: Ion catalítico de Cobre

DCPI (2,6-diclorofenolindofenol)

DPPH: 1,1-Difenil-2-Picrilhidracil

EAA: Equivalentes de ácido ascórbico

EAG: Equivalentes de ácido gálico

ECNT: Enfermedades crónicas no transmisibles

ERN: Especies reactivas de nitrógeno

ERO: Especies reactivas de oxígeno

ET: Equivalentes de trolox

Fe⁺²: Ion catalítico de Hierro

FRAP: Actividad reductora del hierro férrico

HO•: Radical hidroxilo

H₂O₂: Peróxido de hidrógeno

LB: Luria-Bertani

Na²⁺: Cation sodio

ORAC: Capacidad de absorción de radicales de oxígeno

O₂: Oxígeno molecular

PDA: Papa dextrosa agar

pH: Potencial de hidrógeno

RL: Radicales libres

UV: Ultra violeta

Abreviaturas de acuerdo a IUPAC 1991.

mm: Milímetro

μmol: Micro mol

h: Horas

μl: Microlitro

nm: Nanómetro

mbar: Milibar

mg: Miligramos

g: Gramos

ml: Mililitros

v/v: Volumen-volumen

rpm: Revoluciones por minuto

min: Minutos

°C: Grados Celsius

Resumen

Por su contenido de compuestos antioxidantes, se ha vinculado el consumo de frutas y verduras con un menor riesgo de desarrollar enfermedades crónicas no transmisibles. Sin embargo, aunque se han realizado diversos estudios no se cuenta con la información suficiente sobre el contenido de antioxidantes en frutas y verduras endémicas de nuestro país. Por lo anterior, en el presente trabajo se evaluó el contenido total de compuestos fenólicos, ácido ascórbico, capacidad antioxidante (por los métodos de ABTS^{•+} y DPPH[•]) y el efecto inhibitorio sobre el crecimiento de algunos microorganismos en extractos de aguacate, calabaza, verdolaga, guayaba, manzana, papaya, tuna verde y púrpura.

Se observó un alto contenido de compuestos fenólicos en guayaba y verdolaga (631.43 y 362.5 mg EAG/100 g bh, respectivamente), mientras que solo la guayaba presentó el mayor contenido de ácido ascórbico (102.63 mg EAA/100 g bh). Por otro lado, el aguacate, la guayaba y la tuna púrpura mostraron alta capacidad antioxidante, determinada por el método ABTS^{•+} (5,967; 3,325 y 2,987 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$ respectivamente) a diferencia de lo obtenido mediante el ensayo de DPPH[•] en el cual únicamente sobresalió la guayaba con un contenido de 5,294 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$. En cuanto a la actividad antimicrobiana, los extractos de tuna verde, tuna púrpura y papaya, presentaron únicamente actividad frente a *Escherichia coli* (MC4100), mientras que la guayaba, la papaya y la manzana, sobre *Staphilococcus aureus* (ATCC1654) y ninguno de los vegetales analizados mostró actividad antifúngica sobre *Aspergillus niger* (ATCC 6275).

Palabras clave: Actividad antimicrobiana, compuestos antioxidantes, estrés oxidativo, frutas, radicales libres y verduras.

Summary

By its content of antioxidant compounds, has linked the consumption of fruits and vegetables with reduced risk of developing chronic noncommunicable diseases. However, although there have been several studies do not have sufficient information on the content of antioxidants in fruits and vegetables endemic in our country. Therefore, in this study was evaluated the total content of phenolic compounds, ascorbic acid, antioxidant capacity (by the methods of ABTS^{•+} and DPPH[•]) and the inhibitory effect on the growth of some microorganisms, extracts of avocado, pumpkin purslane guava, apple, papaya, green and purple cactus pear.

Was observed a high content of phenolic compounds in guava and purslane (631.43 and 362.5 mg AEG / g wb 100, respectively), whereas only guava had the highest ascorbic acid content (102.63 mg EAA / 100 g wb). On the other hand, avocado, guava and purple cactus pear showed high antioxidant capacity, determined by the ABTS⁺ method (5,967, 3,325 and 2,987 $\mu\text{mol ET} / \text{g wb } 100$ respectively) unlike what obtained by testing only DPPH[•] assay in which only excelled guava containing 5.294 mol ET / g wb 100. Regarding antimicrobial activity showed that extracts of green cactus pear, purple cactus pear and papaya only had activity against *Escherichia coli* (MC4100) while guava, papaya and apple, of *Staphylococcus aerus* (ATCC1654) and none of the plants analyzed showed antifungal activity against *Aspergillus niger* (ATCC 6275).

Keywords: Antimicrobial activity, antioxidant compounds, Oxidative stress, fruit, free radicals and vegetables.

1 Marco teórico

1.1 Beneficios del consumo de frutas y verduras

En los últimos años se ha vinculado el consumo de frutas y verduras con la disminución del riesgo de desarrollar diferentes enfermedades, generando una tendencia mundial hacia un mayor consumo de alimentos de origen vegetal, motivado fundamentalmente por una creciente preocupación por una dieta saludable y más equilibrada, en donde tenga una mayor participación la fibra dietética, vitaminas y minerales, lo cual se fundamenta en las necesidades de la vida moderna (Rodríguez, 2011).

Si bien, el consumo de frutas y verduras ayuda a evitar problemas de sobrepeso y obesidad, el mayor beneficio de este tipo de alimentos se debe a la prevención de enfermedades crónico no transmisibles (ECNT). Jacoby y Keller (2006), mencionan que con su consumo regular se podría alcanzar una disminución del 35% de todos los tipos de cáncer, más específicamente tal reducción sería de 20% para los cáncer de la boca, esófago, pulmones, cérvix y vejiga; y de 50% para los de páncreas, vesícula, mama y útero; además, el mayor consumo de fibra presente en frutas y verduras y la presencia de ciertos fitoquímicos (terpenos, fenoles, tioles y lignanos) que contribuyen a disminuir hasta en 31% el riesgo de cardiopatías isquémicas. Este efecto benéfico puede deberse a que los alimentos (Tabla 1) poseen una variedad de compuestos antioxidantes como antocianos, flavonoides, carotenoides, ácido ascórbico entre otros que pueden ser inocuos para la salud y que además, actúan a bajas concentraciones (Gavira *et al.*, 2009).

Tabla 1.- Antioxidantes y sus fuentes alimentarias

ANTIOXIDANTES	FUENTES
Tocoferoles	Papas frescas, pimentón, aguacate, apio, repollo, frutas, aceites vegetales y de semillas, germen de trigo y de maíz, almendras, avellanas, girasol, frijol de soya, nuez, maní, pollo, pescado.

Ácido ascórbico	Limón, lima, naranja, guayaba, mango, kiwi, fresa, papaya, mora, piña, tomate, col, coliflor, brócoli, pimentón, verduras de hojas verdes como espinacas, perejil, hojas de rábano y lechuga.
Carotenoides	Verduras y frutas amarillas, anaranjadas y rojas, como las zanahorias, jitomates, naranjas, papaya y sandía, verduras verde oscuro como, brócoli, calabaza, pimientos y espinacas.
Compuestos Fenólicos	Cerezas, ciruelas, fresas, kiwi, manzana, melocotón, naranja, pera, piña, plátano y uva

Fuente: Avello y Suwalsky, 2006; Henufood, 2013.

1.2 Propiedades antioxidantes de frutas y verduras

Las frutas y verduras, contienen niveles significativos de compuestos biológicamente activos que son beneficiosos a la salud más allá de las propiedades nutricionales, ya que contienen una gran variedad de fitoquímicos con propiedades antioxidantes, entre los que destacan la vitamina C, tocoferoles, fenoles y carotenoides como el licopeno y beta-caroteno, además existen otros compuestos como los flavonoides incluyendo flavonas, isoflavonas, flavononas, antocianinas y catequinas. Algunas de estas estructuras se muestran en la figura 1 cuyas características en común es que poseen en su estructura un anillo aromático que lleva al menos un sustituyente hidroxilo (Szeto *et al.*, 2002; Gutiérrez, 2007; Barbosa *et al.*, 2008).

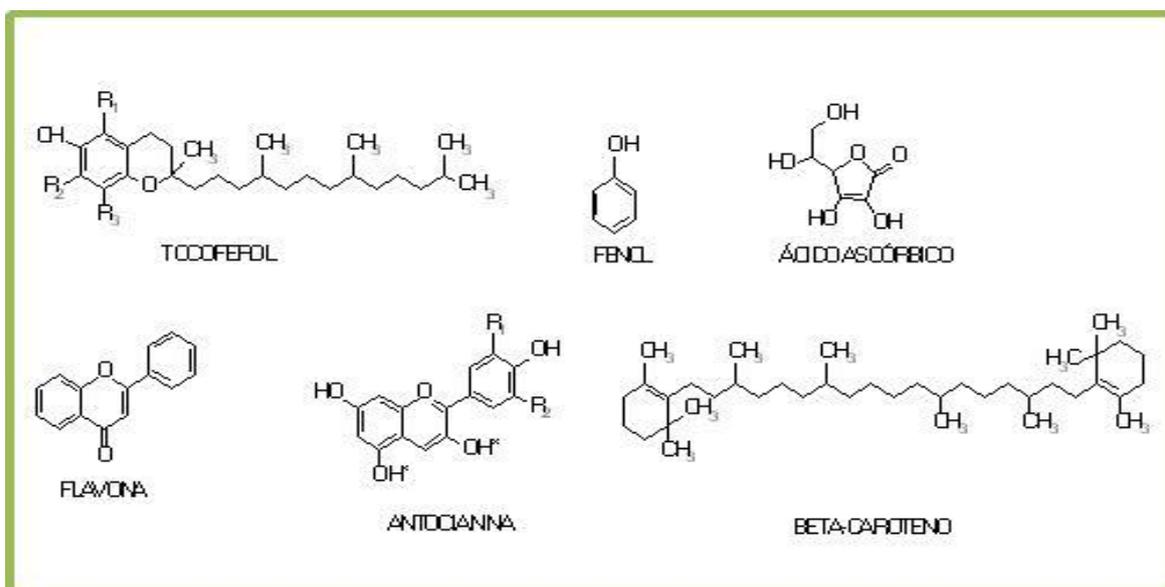


Figura 1.- Estructuras químicas de compuestos antioxidantes.

Los nutrientes contenidos en los alimentos se encuentran repartidos de forma desigual por lo que desempeñan funciones diferentes según su naturaleza, siendo los antioxidantes uno de los componentes principales para proteger al organismo, por lo cual es importante la prevención de algunas deficiencias de micronutrientes y en especial de enfermedades crónicas no transmisibles mediante un alto consumo de frutas y verduras (Jacoby y Keller, 2006, Gutiérrez *et al.*, 2007).

Dado el importante papel que presentan los antioxidantes en la salud, se ha determinado su actividad antioxidante total contenida en una amplia gama de alimentos, siendo los vegetales quienes presentan un mayor contenido de estos, con lo cual, se ha podido dar una aproximación más real del efecto potencial que podría ejercer *in vivo* un alimento rico en sustancias antioxidantes (Liu, 2003).

Entre las verduras y frutas analizadas en estos estudios destacan las bayas, jamaica, guayaba, manzana, papaya, calabacita, betabel, aguacate, verdolaga, yerbabuena y tuna (Ismail *et al.*, 2004; Gutiérrez *et al.*, 2007; Carlsen *et al.*, 2010; Cruz *et al.*, 2013; Zafra *et al.*, 2013). Dentro de las cuales destacan:

1.2.1 Aguacate

El aguacate (Figura 2) proviene de un árbol que se originó en una amplia área geográfica que abarca desde la planicie central de México hasta la costa de la América Central. Su consumo es ampliamente recomendado porque aporta numerosos beneficios a la salud, su pulpa es una fuente rica en vitaminas y minerales, además contiene una alta concentración de folatos, potasio y fibra, así como ácidos grasos monoinsaturados. El aguacate fresco contiene los niveles más altos de β -sitosterol entre los vegetales que se consumen crudos, lo cual clínicamente ha demostrado reducción en el nivel sanguíneo de colesterol de baja densidad, al bloquear su absorción en el intestino, todo ello hace del aguacate un fruto altamente cotizado para ser incluido en el consumo normal de la dieta, para consumo en fresco (García y Castro, 2008).



Figura 2.- Aguacate (*Persea americana* var hass).

1.2.2 Calabaza

La calabaza pertenece al género *cucúrbita* (Figura 3), es uno de los vegetales de mayor importancia en México quien es uno de los principales productores de ésta verdura (*Cucurbita pepo* L.) a nivel mundial. Fisiológicamente este fruto presenta un comportamiento no climatérico, su valor nutricional más importante se encuentra principalmente en sus semillas, cuyo consumo presenta una importante aportación de proteínas y aceites, mientras que las flores y frutos maduros contiene nutrientes como el calcio, el fósforo, tiamina, riboflavina, niacina y ácido ascórbico, se puede consumir tanto cruda como cocida (E-journal. UNAM, 2014).



Figura 3.- Calabaza italiana (*Cucurbita pepo* L.).

1.2.3 Verdolaga

Su nombre científico es *Portulaca oleracea* (Figura 4) es un planta herbácea con pequeñas flores amarillas, un tallo con tonalidad entre rojo y púrpura que puede llegar a crecer hasta 40 centímetros, contiene componentes diversos con gran importancia nutricional entre los que se encuentran, ácido ascórbico, ácidos grasos poliinsaturados (omega 3), compuestos antioxidantes entre otros (Fayong, 2009).



Figura 4.- Verdolaga (*Portulaca oleracea*).

1.2.4 Guayaba

La guayaba se considera originaria de América, posiblemente de algún lugar de Centroamérica, el Caribe, Brasil o Colombia. Es una especie que se encuentra prácticamente en todas las áreas tropicales y subtropicales del mundo, se adapta a distintas condiciones climáticas. Este fruto tiene un diámetro longitudinal entre 4 a 6 cm, con un peso entre 55 a 95 g/fruta, los hay redondeados y ovalados en forma de pera dependiendo de la variedad, de la misma manera el color de la pulpa y la cáscara (Figura 5). La madurez se observa en la cáscara cuando alcanzan un color verde amarillento o amarillo rosado. De la guayaba sobresalen sus agradables características sensoriales y sus características nutricionales, destacan sus propiedades digestivas (alto coeficiente de digestibilidad y elevado contenido de fibra (49% base seca) por lo que posee un suave efecto laxante. Se destacan su alto contenido de vitamina C, su aporte de compuestos fenólicos y su

actividad antioxidante, es una fruta rica en proteína, grasa, fibra y potasio (Restrepo *et al.*, 2009; FAO, 2013)



Figura 5.- Guayaba (*Psidium guajava*).

1.2.5 Papaya

Se considera que es originaria del sur de México y Centroamérica, puede medir de entre 10 a 25 cm o más de largo y 7 a 15 cm o más de diámetro, y oscila entre 400 gramos y 6 kilos, dependiendo de la variedad (Figura 6). La pulpa de una papaya madura es de color amarillo, rojo anaranjado o rosado lo que delata su alto contenido de beta carotenos y su consistencia es cremosa pero firme, carente de fibras, es dulce y refrescante. Contiene nutrientes como, vitamina A, vitamina C, complejo B, potasio, magnesio, fibra, ácido fólico y pequeñas cantidades de calcio y hierro. Contiene entre un 7 y un 9% de azúcares totales, y se consume principalmente como fruta fresca, en postre, licuado o ensalada. Su consumo es ideal para aliviar el estreñimiento debido a que su contenido de fibra le confiere propiedades laxantes (Propapaya, 2009).



Figura 6.- Papaya (*Carica papaya* var maradol)

1.2.6 Manzana

Su pulpa es de consistencia y cualidades organolépticas variables (desde ácido hasta muy dulce), contiene de 5 a 10 semillas. Desde el punto de vista nutritivo la manzana es una de las frutas más completas y enriquecedoras en la dieta y su consumo habitual es en fresco (Figura 7), reportando grandes beneficios para la salud. Un 84% de su composición es agua y el 14% restante está constituido por glúcidos, siendo la mayor parte fructuosa y en menor proporción glucosa y sacarosa, es fuente discreta de vitamina E, además de una escasa cantidad de vitaminas A y C. Es rica en fibra y entre su contenido mineral sobresale el potasio. Las propiedades dietéticas que se le atribuyen se deben a los elementos fitoquímicos que contiene, entre ellos flavonoides, compuestos fenólicos y quercitina con propiedades antioxidantes (Dolz, 2008)



Figura 7.- Manzana (*Pyrus malus* var red delicious).

1.2.7 Tuna

La tuna es el fruto del nopal, el cual pertenece a la familia de las Cactáceas, crece en regiones áridas y semiáridas siendo México el principal productor. Es un fruto de forma oval con un gran número de semillas y una corteza semi-duro con espinas (Figura 8), que se pueden agrupar por colores de frutas: rojo, púrpura, amarillo-naranja y blanco, esta fruta es una buena fuente de de compuestos bioactivos entre los que destacan la fibra dietética, pigmentos de diversos colores como las betalaínas compuestos fenólicos, vitaminas y ácidos grasos

poliinsaturados, también minerales, como calcio y potasio y algunas vitaminas, como la vitamina C (Sumaya *et al.*,2011; Vergara, 2013).



Figura 8.- Tuna verde y púrpura (*Opuntia ficus-indica*).

1.3 Antioxidantes como mecanismo de defensa

Se define a los antioxidantes como aquellas moléculas o sustancias que se encuentran presentes en pequeñas concentraciones, comparadas con las de un sustrato oxidable, que tienen la capacidad de disminuir o evitar la oxidación del mismo, cediendo un electrón a los radicales libres para convertirlos en moléculas estables (Figura 9). Como una parte del metabolismo celular que se realiza en las mitocondrias, existe una producción basal de radicales libres (RL) y especies reactivas de oxígeno (ERO) o nitrógeno (ERN), algunos de los cuales son o dan origen a átomos o moléculas, que contienen en su último orbital un electrón desapareado, por lo cual, tienden a captar un electrón de moléculas cercanas. Las cuales se convierten a su vez en RL, razón por la que son altamente tóxicos para el organismo, sin embargo en condiciones normales el efecto dañino es neutralizado por los antioxidantes (Alonso *et al.*, 2001; Jiménez *et al.*, 2011; Eroski Consumer, 2013).

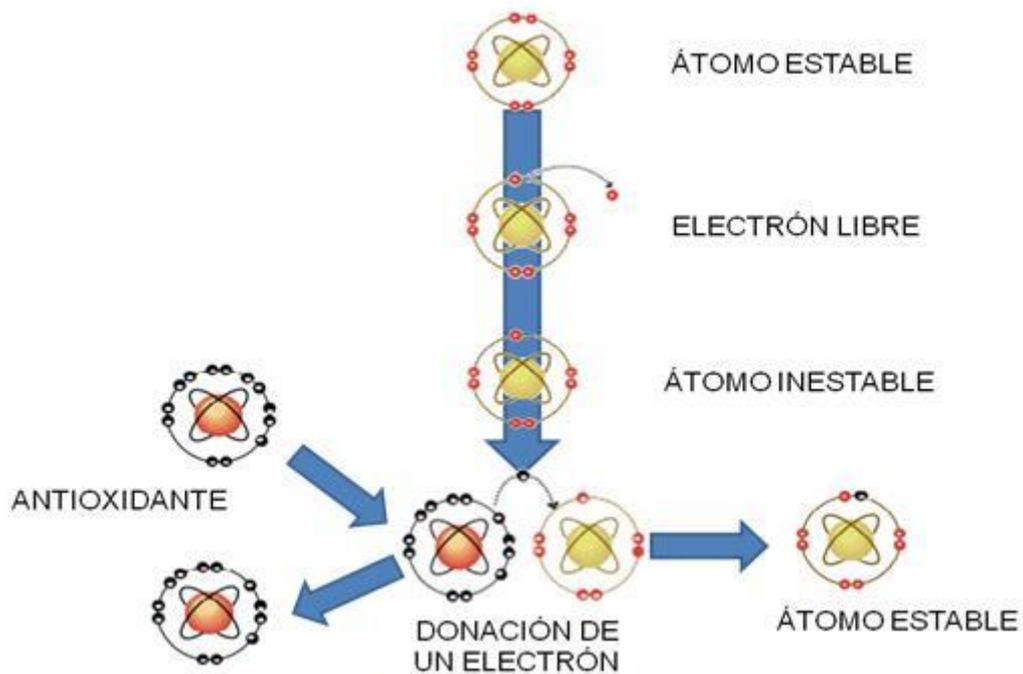


Figura 9.- Interacción de radicales libres con antioxidantes.

Tales sustancias pueden tener acción directa, por medio de la neutralización de los RL y de las especies reactivas no radicales, o indirecta, a través de sistemas enzimáticos con capacidad para su neutralización, cuyas propiedades físicas más importantes incluyen: insolubilidad en agua, unión con superficies hidrofóbicas, absorción lumínica, atenuación del nivel energético (“quenching”) de los singletes de oxígeno, bloqueo de las reacciones mediadas por RL y ser fácilmente isomerizables (Alonso *et al.*, 2001; Rodríguez, 2011). Además, los antioxidantes no se convierten en RL por donación de electrones, ya que son estables en cualquiera de sus formas (Kaur y Kapoor, 2001).

Los mecanismos de acción de los antioxidantes son:

1. Enzimático, sistema integrado por la superóxido dismutasa, la glutatión reductasa, la glutatión peroxidasa y la catalasa, las cuales detienen la propagación y aumento de RL, evitando una reacción catalítica en cadena al cubrir o detener la reactividad de los primeros RL que se forman (García, 2005; Eroski Consumer, 2013).

2. No enzimáticos, entre los que se encuentra los proteicos y no proteicos (Dorado *et al.*, 2003; Jiménez *et al.*, 2011).
 - a) Proteínas que minimizan la actividad pro-oxidante al contener un metal de transición, tales como ceruloplasmina y hemina.
 - b) Chaperonas moleculares (proteínas de choque térmico), las cuales protegen y reparan las proteínas que han sufrido un daño por los RL.
 - c) No proteicos, entre los que se encuentran el sistema del glutatión oxidado/reducido, la bilirrubina y la vitamina E, que son metabolitos de bajo peso molecular que actúan como estabilizadores o secuestradores de RL.

1.3.1 Tipos de antioxidantes

Los antioxidantes se pueden clasificar conforme a su origen en endógenos (sintetizados por el organismo) y exógenos (provenientes de fuentes externas como frutas y verduras). Asimismo se pueden dividir por su mecanismo para inhibir o retardar la oxidación en: antioxidantes primarios que captan los RL y en antioxidantes secundarios que no se encuentran relacionados con la captación de estos (Uttara *et al.*, 2009).

Los antioxidantes primarios, se destruyen durante el período de inducción, mientras que los antioxidantes secundarios operan a través de cierto número de mecanismos, incluyendo su unión a metales pesados, captación del oxígeno, conversión de hidroperóxidos a especies no radicales, absorción de radiación UV o desactivación del oxígeno (Zapata *et al.*, 2007).

Estas propiedades permiten que los antioxidantes tengan un efecto benéfico a la salud, evitando la oxidación de macromoléculas, por lo que puede provocar alteraciones fisiológicas, facilitando el uso del oxígeno por parte de las mitocondrias y la formación de complejos que mitigan las reacciones productoras de RL y ERO. Por otro lado, si los niveles de antioxidantes son deficientes se da una sobreproducción de radicales y especies reactivas, lo que puede llevar a un estado crónico de estrés oxidativo en el organismo (Zamora, 2007).

1.4 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo, se define como un proceso biológico que tiene origen a partir del desbalance entre la producción de pro-oxidantes (RL y ERO) generados durante los procesos metabólicos y los antioxidantes presentes en el organismo, lo cual provoca que disminuyan su eficiencia para inhibir los efectos dañinos de los primeros (Jiménez *et al.*, 2011).

1.4.1 Radicales libres (RL) y especies reactivas de oxígeno (ERO)

Las especies reactivas son agentes oxidantes radicales y no radicales que transforman fácilmente en RL a las moléculas que se encuentran cerca de éstos, lo que les confiere la característica de ser compuestos muy dañinos para las células (Dorado *et al.*, 2003; Avello y Suwalsky, 2006).

En condiciones normales, las células metabolizan la mayor parte del O₂ mediante la formación de agua sin la producción de intermediarios tóxicos, mientras que un pequeño porcentaje (en torno al 5%), forman tres intermediarios altamente tóxicos, dos de los cuales son literalmente RL (el anión superóxido [O₂^{•-}] y el radical hidroxilo [HO[•]]), el tercero es el peróxido de hidrogeno (H₂O₂), quien aunque no es un radical, tiene un potencial altamente tóxico al dar origen al HO[•]. En situaciones en las que existe una mayor actividad metabólica (etapas del crecimiento, desarrollo activo o procesos inflamatorios), ocurre una mayor demanda tisular de oxígeno y parte de éste es metabolizado, generándose un alto número de sustancias oxidantes (Avello y Suwalsky, 2006).

La segunda gran fuente endógena de las ERO, está constituida por el metabolismo de las células del sistema inmunitario tales como los polimorfonucleares, los monocitos sensibilizados, los macrófagos y los eosinófilos, las cuales para que puedan cumplir su función, están dotadas de diversas proteínas, así como de vías metabólicas que generan a las ERO, cuyo último fin es lesionar y destruir elementos extraños. En condiciones normales, estas especies son producidas y utilizadas en compartimentos celulares como los lisosomas que, en el interior de los fagocitos, no producen daño a las células

siempre y cuando los mecanismos antioxidantes de éstas funcionen adecuadamente (Avello y Suwalsky, 2006).

Sin embargo, no todas las especies oxidantes tienen un origen endógeno; la existencia de factores exógenos, como la radiación solar, toxinas fúngicas, pesticidas o xenobióticos, alimentos procesados o con alto contenido de grasas, o fritos y asados, así como el consumo excesivo de alcohol pueden incrementar su nivel intracelular originando un estado de estrés oxidativo (Avello y Suwalsky, 2006; Delgado *et al.*, 2010).

1.4.2 Causas, mecanismo de acción y tipos de estrés oxidativo

El cuerpo humano tiene la capacidad de mantener un balance de óxido-reducción constante, mediante el sistema de defensa antioxidante endógeno, alteraciones en este sistema pueden llevar a la producción de estrés oxidativo, debido a la acumulación de pro-oxidantes, produciendo alteraciones de las funciones celulares (Figura 10), las cuales pueden tener diversos grados de magnitud, por lo que el daño producido puede ser reversible o irreversible, dependiendo de diversos factores como el tiempo que dure el estrés, la edad del organismo, el estado nutricional y los factores genéticos (Dorado *et al.*, 2003).

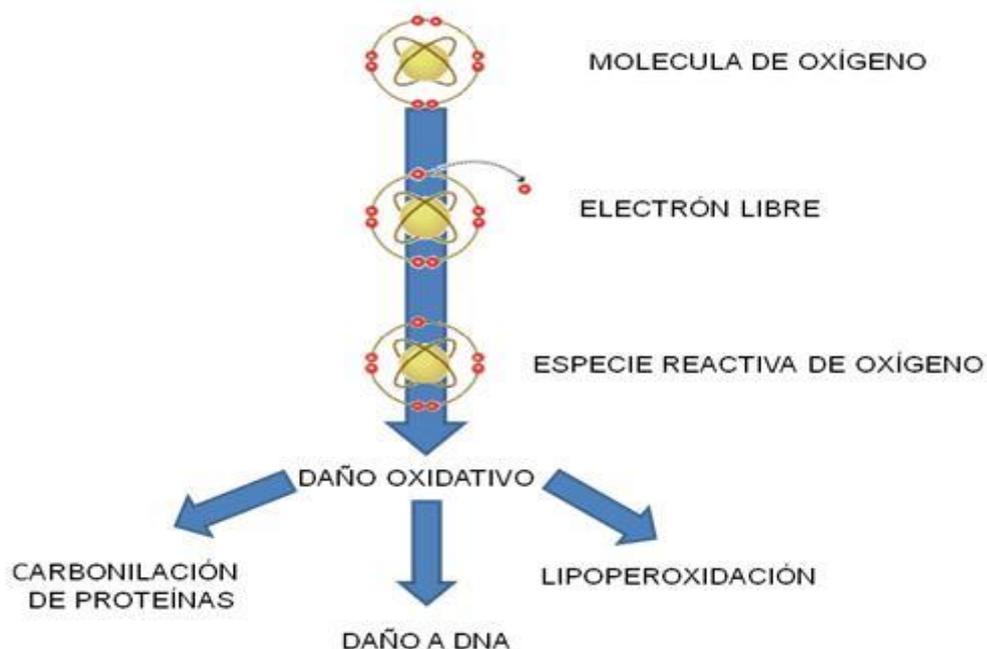


Figura 10.- Daños causados por estrés oxidativo.

Por lo cual, el estrés oxidativo al dañar a las macromoléculas celulares (proteínas, lípidos y DNA) produce modificaciones estructurales que afectan su actividad y/o estabilidad, se encuentra involucrado en la patogénesis y desarrollo de una amplia gama de las enfermedades, entre las que se encuentran las de tipo infeccioso, inmune, inflamatorio, degenerativas, ECNT y aquellas relacionadas con la edad, entre las cuales se pueden mencionar, el Alzheimer, Parkinson, lesión cerebral hipertensiva, distrofia muscular, esclerosis múltiple, cáncer, catarogénesis, degeneración de la retina, fibroplasia retrolental o retinopatía del prematuro, enfermedades autoinmunes, artritis reumatoide, diabetes mellitus, síndrome metabólico, anomalías cardiovasculares, hipertensión, trastornos nefrológicos, enfisema pulmonar, infarto, anemia, hepatitis, pancreatitis, envejecimiento, enfermedad de Werner (envejecimiento prematuro), la aparición de arrugas prematuras y la resequedad de la piel, disfunción endotelial y dermatitis entre otras (Piao *et al.*, 2009; Delgado *et al.*, 2010; Rodríguez, 2011). Por lo descrito anteriormente, se tiene la hipótesis antioxidante de que la ingesta dietética de sustancias antioxidantes, sobre todo de origen vegetal, puede evitar la oxidación de macromoléculas, en la etapa inicial de las enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Zamora, 2007).

1.5 Antioxidantes con capacidad antimicrobiana

Si bien los alimentos son la fuente de energía y nutrientes necesarios, a través del tiempo el hombre ha encontrado en estos la solución a diferentes problemáticas, empleándolos a nivel alimenticio, industrial y medicinal, convirtiéndolos de esta manera, en materias primas de vital importancia para mantener el equilibrio en el binomio de salud y enfermedad, debido a que las deficiencias sanitarias son la principal causa de que éstos se contaminen por microorganismos y/o sus toxinas. Actualmente, se conocen más de 200 enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), las cuales pueden provocar problemas de salud a largo plazo y que son responsables de la muerte de 1.8 millones de personas al año. Las condiciones inadecuadas de cultivo, preparación y almacenamiento de los alimentos, son algunas de las causas por las que los microorganismos llegan a estos. Actualmente se conocen 14 bacterias patógenas y 12 hongos filamentosos

productores de toxinas, que son transmitidos a través de los alimentos entre los que se encuentran *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus niger* (Ramirez *et al.*, 2013).

Por otro lado, es bien conocido que existen productos naturales que además de presentar actividad antioxidante, también poseen actividad antibacteriana y antifúngica, lo cual los hace más atractivos para la industria alimentaria y farmacéutica, ya que estos se pueden encontrar en plantas, hierbas, especias, frutas y verduras que contienen una serie de compuestos con beneficios medicinales y con eficaz actividad antimicrobiana (Bajpai *et al.*, 2008).

La mayoría de los estudios sobre actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de plantas se han centrado en los agentes patógenos y hongos transmitidos por los alimentos tales como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, y *Candida spp.*, *Zygosaccharomyces spp.*, *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Rhizopus spp.*, y *Penicillium spp.* (Ahmadi *et al.*, 2010). Algunos de éstos se describen a continuación:

1.5.1 *Escherichia coli* y su relación con los alimentos

E. coli es un bacilo gram negativo anaerobio facultativo de la familia *Enterobacteriaceae*, tribu *Escherichia*, es un microorganismo de forma bacilar, casi siempre móvil, posee una estructura antigénica (Figura 11), se le considera un microorganismo normal de flora intestinal que puede colonizar el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento. Sin embargo algunas cepas pueden ser patógenas las cuales pueden causar daño produciendo diferentes cuadros clínicos, como náuseas o vómito, cólicos, diarrea hemorrágica, cansancio, fiebre e inclusive puede causar infecciones urinarias. La principal vía de exposición pareciera ser el consumo de alimentos contaminados, debido a que éstos pueden contaminarse de manera directa o por contaminación cruzada durante el crecimiento y cultivo (frutas y verduras), recolección (leche) o faenado (carne). Adicionalmente se puede producir una contaminación durante la manipulación postcosecha, transporte, elaboración y manipulación no higiénica de alimentos durante su preparación. Siendo los factores que contribuyen a la persistencia de

la *E. coli* en los sistemas alimentarios un inadecuado control de los parámetros de procesamiento como la temperatura de cocción, valor del pH, actividad del agua y almacenamiento a altas temperaturas que permiten el crecimiento de estas bacterias (Pascual y Calderón, 2000; Rodríguez, 2002; FAO, 2013).

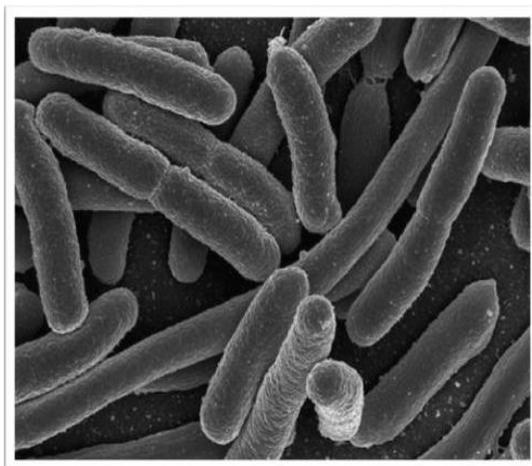


Figura 11.- *Escherichia coli* (Earth eats, 2014).

1.5.2 *Staphylococcus aureus* y su relación con los alimentos

Es una especie bacteriana integrada por formas de coco, que se dividen en más de un plano caracterizándose por presentar una disposición típica en forma de racimos de uvas, son anaeróbicos, inmóviles, facultativos, gram positivos y crece relativamente bien en condiciones de presión osmótica elevada y humedad reducida (Figura 12). Produce varias toxinas que contribuyen a su patogenicidad al aumentar su capacidad de invadir el cuerpo o dañar los tejidos, una de estas toxinas es causante del síndrome del shock tóxico, una infección grave caracterizada por fiebre elevada y vómitos, además produce una enterotoxina que al ser ingerida genera náuseas y vómito, siendo una de las causas más comunes de intoxicación la contaminación alimentaria transmitida por el humano y los animales.

Staphylococcus aureus, es uno de los agentes etiológico más frecuente de las ETAs, ya que su presencia está asociada con la contaminación introducida por los manipuladores de alimentos, el incumplimiento de buenas prácticas de manufactura o la utilización de materia prima contaminada, produciendo una

intoxicación aguda debido a la presencia de una toxina muy resistente al calor (Pascual y Calderón, 2000; Gerard *et al.*, 2007; Jordá *et al.*, 2012).

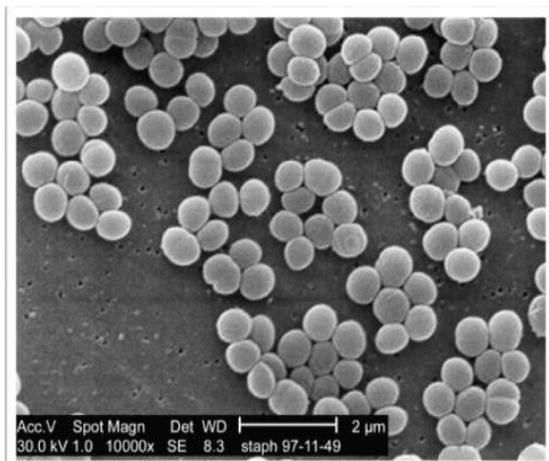


Figura 12.- *Staphylococcus aureus* (NMPDR, 2014).

1.5.3 *Aspergillus niger* y su relación con los alimentos

Este es un hongo filamentoso (Figura 13), hialino y ubicuo que se encuentra en el grupo de los aspergilos negros, el cual se clasifica dentro de la familia *moniliaceae*, tiene cabezas conoidales de tonos negro a negro grisáceo, negro café, negro púrpura o negro carbón, son globosas, radiadas o divididas formando columnas de cadenas de conidios irregulares o bien definidas (Sáez *et al.*, 2012). Se encuentran suspendidos en el aire en forma de esporas, tienen la capacidad de germinar cuando encuentran las condiciones adecuadas para su desarrollo, suelen formar parte de la microbiota de los alimentos produciendo diversas toxinas, se desarrollan por un inadecuado almacenamiento en cereales, frutas y hortalizas (Ramírez *et al.*, 2013). Es denominado como un "patógeno oportunista", es decir, que suele afectar a pacientes con mecanismos de defensa comprometidos actuando como un colonizador, causando enfermedades alérgicas, infecciones locales o ser responsable de cuadros invasivos graves (SEIMC, 2013).

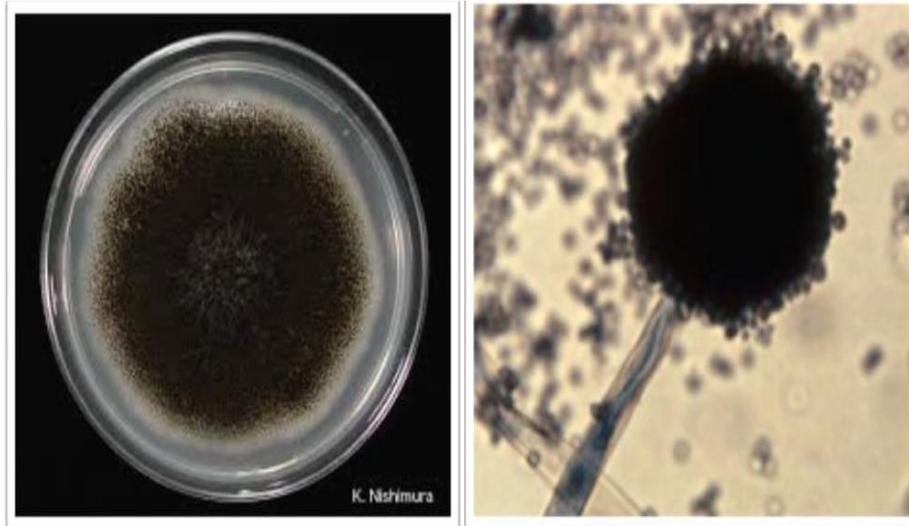


Figura 13.- *Aspergillus niger* (UNAM, 2014).

1.6 Mecanismo de acción de compuestos antioxidantes como antimicrobianos

Las betalaínas, el ácido ascórbico y los compuestos fenólicos presentes en algunos vegetales, atacan las paredes y membranas celulares de los microorganismos, afectando su permeabilidad y provocando la liberación de constituyentes intracelulares (por ejemplo, ribosa, Na^{2+} y glutamato), además interfieren con la función de la membrana (transporte de electrones, la absorción de nutrientes, proteínas y síntesis de ácidos nucleicos), por lo tanto los compuestos fenólicos activos pueden tener varios objetivos invasivos, que podrían conducir desde la acción bactericida (inhibición completa) o acción bacteriostática (inhibición parcial del crecimiento microbiano) esto dependiendo del tipo de microorganismo, el tiempo de acción, la fase de crecimiento de la bacteria así como de la concentración de compuestos antimicrobianos utilizada (Bajpai *et al.*, 2008; Jiménez *et al.*, 2011; Pabón *et al.*, 2013).

2 Problema de investigación

De acuerdo a las evidencias presentadas se puede afirmar que el binomio de compuestos antioxidantes y pro-oxidantes, juegan un papel central en el funcionamiento normal de los mecanismos de regulación, que permiten conservar un adecuado estado fisiológico y de salud de nuestras células. Por lo que, el consumo de frutas y verduras con un alto contenido de compuestos antioxidantes se ha asociado con una reducción y prevención de enfermedades del tipo infeccioso, inmune, inflamatorio, degenerativas y crónicas, todas ellas relacionadas con el estrés oxidativo inducido por la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) en el cuerpo humano (Triantisa *et al.*, 2005).

Los antioxidantes pueden también presentar actividad antimicrobiana (por ejemplo los polifenoles que son componentes abundantes en especies vegetales), la cual puede proteger al organismo contra los daños causados por los procesos patogénicos asociados a bacterias y parásitos que dañan al organismo constituyendo así un mecanismo de defensa frente a estos agresores (Ramírez *et al.*, 2006; Benítez *et al.*, 2010).

Sin embargo, pocos estudios se han realizado sobre la actividad antioxidante y antimicrobiana presente en frutas y verduras de consumo común en México, la mayoría de los estudios se han realizado con vegetales de otros países, por lo que es importante realizar la evaluación del contenido de antioxidantes con las frutas y vegetales endémicas de nuestro país, así como analizar las propiedades antimicrobianas que éstos puedan contener.

3 Justificación

El estilo de vida actual ha generado inadecuados hábitos alimenticios, consumiendo alimentos con baja calidad nutricional y capacidad antioxidante. Lamentablemente en nuestra dieta se incluye comida rápida con alto contenido en grasas, alimentos chatarra, enlatados que contienen conservadores y bebidas con alto contenido de azúcar como los refrescos, reduciendo el consumo de alimentos naturales. Esto ha causado graves problemas de salud en nuestra sociedad como la desnutrición y obesidad, así como el aumento de diversas ECNT entre las que se encuentran las cardiovasculares y cáncer (en sus diversos tipos), como las dos primeras causas de muerte entre la población a nivel mundial, generadas como una consecuencia del estrés oxidativo, es por ello que las deficiencias significativas de antioxidantes en la alimentación del ser humano, representa uno de los factores más fuertemente relacionado con el incremento de una mayor actividad degenerativa de células y tejidos del organismo.

Por otra parte, algunos compuestos antioxidantes también presentan actividad antimicrobiana, que bien pueden ser aprovechados en tratamientos contra infecciones de origen microbiano y enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. Recientemente se ha generado un mayor interés por estudios referentes al uso de frutas y vegetales, con la finalidad de reducir la incidencia de enfermedades degenerativas y de origen microbiano, por el efecto protector de sus compuestos antioxidantes. Sin embargo, no se cuenta con la información suficiente sobre el contenido de compuestos antioxidantes y actividad antimicrobiana, sobre todo con frutas y verduras endémicas de nuestro país, tales como aguacate, calabaza, verdolaga, guayaba, manzana, papaya, tuna verde y púrpura. Por las razones anteriormente expuestas la realización de la presente investigación, contribuirá a incrementar el conocimiento sobre estos alimentos.

4 Objetivos

4.1 Objetivo General

Evaluar la capacidad antioxidante y efecto antimicrobiano de aguacate, calabaza, verdolaga, guayaba, manzana, papaya, tuna verde y púrpura considerando su forma de consumo.

4.2 Objetivos Específicos

1. Realizar la preparación de las frutas y verduras de estudio para el análisis.
2. Cuantificar el contenido de compuestos fenólicos, ácido ascórbico de frutas y verduras de estudio.
3. Determinar la actividad antioxidante (en base a los ensayos de ABTS^{•+} y DPPH[•]) y actividad quelante presente en frutas y verduras de estudio.
4. Evaluar la actividad antimicrobiana de aceites de frutas y verduras de estudio sobre cepas de *Escherichia coli*, *Stafilococcus aureus* y *Aspergillus niger*.

5 Hipótesis

Los extractos de frutas y verduras que presentan alto contenido de compuestos fenólicos y una alta actividad antioxidante tendrán una eficiente actividad antimicrobiana.

6 Metodología

En la figura 14 se presenta el esquema general de la metodología utilizada para la extracción y cuantificación de compuestos antioxidantes así como los compuestos antimicrobianos.

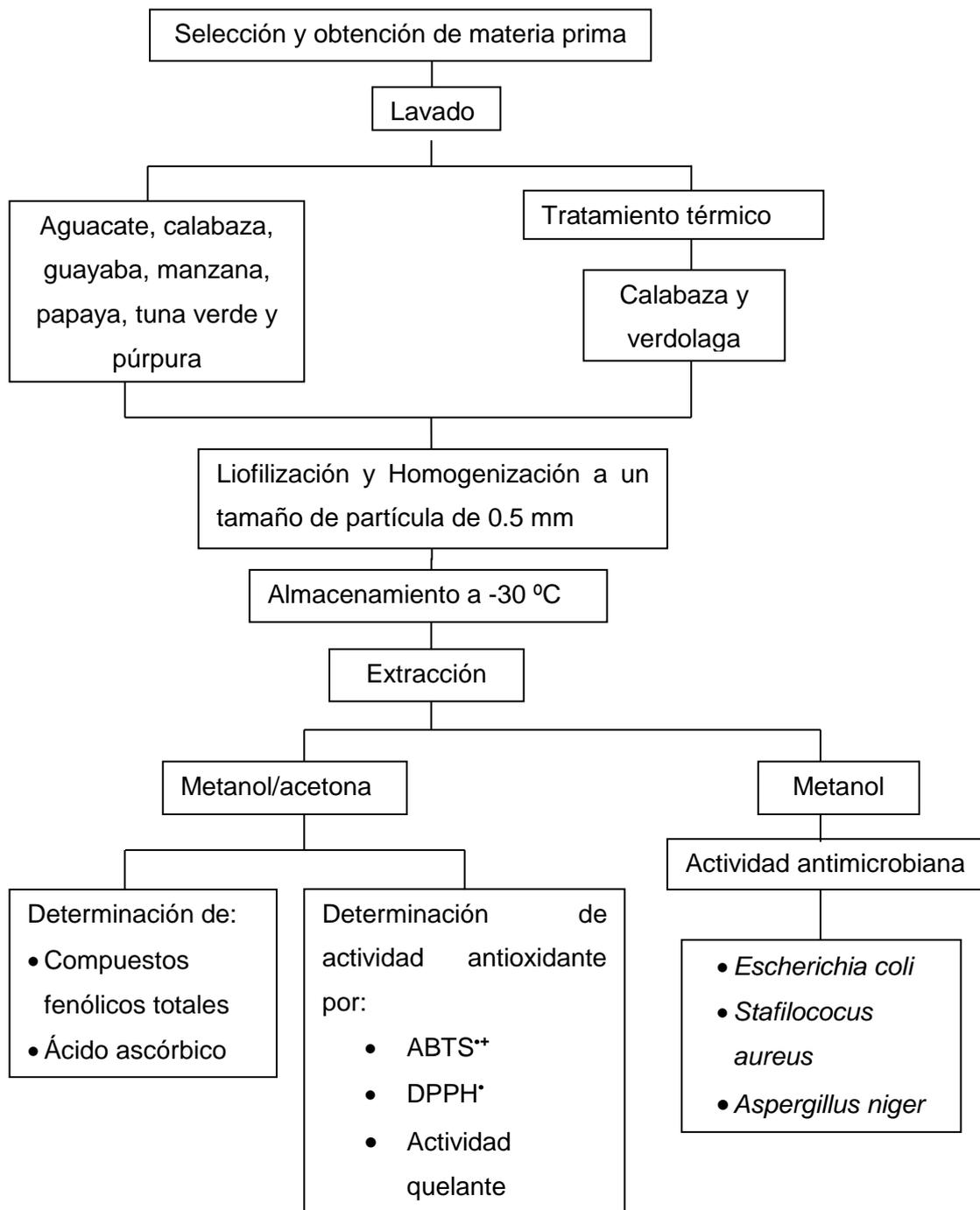


Figura 14.- Diseño metodológico.

6.1 Preparación de las muestras de estudio

Las frutas y verduras utilizadas así como su nombre científico se mencionan en la tabla 2, las cuales fueron obtenidas en diferentes mercados de la ciudad de Pachuca de Soto Hidalgo, a excepción de la de la tuna verde y púrpura que fueron donadas por el Consejo de Nopal y Tuna del municipio de Otumba, Estado de México.

Tabla 2.- Nombre común y científicos de las muestras de estudio

Nombre común	Nombre científico	Partes usadas	Fuente
Aguacate	<i>Persea americana var hass</i>	Pulpa	Poovarodom <i>et al.</i> 2010
Calabaza italiana	<i>Cucurbita pepo L.</i>	Pulpa y epidermis	E-journal. UNAM, 2014
Verdolaga	<i>Portulaca oleracea</i>	Hojas y tallo	Macías, 2013
Guayaba	<i>Psidium guajava var calvillo</i>	Pulpa, epidermis y semillas	Rodríguez <i>et al.</i> , 2010
Manzana	<i>Pyrus malus var red delicious</i>	Pulpa y epidermis	Dolz, 2008
Papaya	<i>Carica papaya var maradol</i>	Pulpa	Acosta <i>et al.</i> , 2001
Tuna verde	<i>Opuntia ficus-indica verde</i>	Epidermis y pulpa	Cruz <i>et al.</i> , 2013
Tuna púrpura	<i>Opuntia ficus-indica púrpura</i>	Epidermis y pulpa	Morales y Cervantes 2011

La calabaza y verdolaga fueron lavadas y desinfectadas, posteriormente se sometieron a un proceso de cocción (hervido) durante 5 minutos, el cual fue dependiendo de su forma de preparación casera (forma habitual de consumo) tratando de obtener una textura similar. Las frutas y verduras frescas se lavaron y se almacenaron a 4 °C durante 24 horas para atemperarlas, transcurrido el tiempo se obtuvo la porción comestible la cual se peso, se colocó en bolsas y se almacenó a -33 °C durante 24 horas.

Todas las muestras fueron liofilizadas en una liofilizadora (LABCONCO VWR26671-58) a -50 °C y a una presión de 0.140 mbar. Para realizar una correcta interpretación de los datos obtenidos de los compuestos antioxidantes y actividad antioxidante se realizó una conversión utilizando un factor de corrección

(F) descrito por Redonde y Villanueva (1997), donde se utilizó la siguiente ecuación:

$$F = \frac{PTMC (100-AMC)}{PTMP (100-AMP)}$$

Donde:

PTMC: peso total del material crudo

AMC: contenido de agua del material crudo

PTMP: peso total del material procesado

AMP: contenido de agua del material procesado

6.2 Extracción de compuestos Antioxidantes

Se realizó la extracción acuoso-orgánica utilizando la metodología modificada descrita por Saura-Calixto *et al.* (2007), donde las muestras liofilizadas se molieron en un mortero y se pasaron por un tamiz de 500 micras, posteriormente se pesaron 250 mg de muestra por duplicado y se colocaron en tubos de 50 ml, a cada una se les agregó 10 ml de una mezcla metanol/agua 50:50 (v/v) y se agitaron durante 30 min a 50 °C a 300 rpm en una incubadora con agitación (Lab Tech, modelo LSI-30106). Posteriormente se retiraron los tubos y se centrifugaron a 3,400 rpm, durante 10 min en una centrifuga (Hamilton Van Guard V6500), transcurrido el tiempo se les retiró el sobrenadante el cual se transfirió a otro tubo. Al residuo se le agregaron 10 ml de una mezcla acetona/agua 70:30 (v/v), y se agitaron nuevamente durante 30 min a 50 °C a 300 rpm según lo descrito por Restrepo *et al.* (2009), de igual manera se centrifugaron y se tomó el segundo sobrenadante, y se mezcló con el primer sobrenadante extraído, para finalmente aforar a 25 ml con una mezcla 1:1 de las soluciones metanol/agua 50:50 (v/v) y acetona/agua 70:30 (v/v).

6.3 Compuestos antioxidantes

6.3.1 Contenido de compuestos fenólicos totales

El contenido de fenoles totales se determinó de acuerdo con el método descrito por Stintzing *et al.* (2005), donde se utilizó el reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, 2 N). Se realizó una curva de calibración estándar con 0, 100, 200 y 300 mg/L de ácido gálico. Para lo cual se colocó en microtubos de 1.5 ml color ámbar, 100 µl de extractos, 500 µl de solución Folin-Ciocalteu (1:10 en agua desionizada) y 500 µl de solución carbonato de sodio al 7.5%, las muestras se agitaron en vortex y se mantuvieron a temperatura ambiente durante 30 min para finalmente determinar la absorbancia a 765 nm en un lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA), los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico por 100g de muestra liofilizada (mg EAG/100 g muestra).

6.3.2 Determinación de ácido ascórbico

El contenido de ácido ascórbico en los extractos fue determinado mediante el método descrito por Dürüst *et al.* (1997), en el cual se realizó una curva de calibración estándar a diferentes concentraciones (0,10, 20, 30, 40 y 50 mg/L de ácido ascórbico y oxálico) que al igual que a los extractos, se adicionó en microtubos de 1.5 ml color ámbar, 100 µl de cada concentración y/o muestra, 100 µl de amortiguador y 800 µl de DCPI (2,6-diclorofenolindofenol), realizando la lectura a 520 nm en un lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA), los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido ascórbico por 100 g de muestra liofilizada (mg EAA/100 g muestra).

6.4 Actividad antioxidante

6.4.1 Actividad antioxidante mediante ABTS^{•+}

Este método se realizó de acuerdo con lo descrito por Kukoski *et al.* (2004), el cual se determinó mediante la formación del radical ABTS^{•+}, obtenido tras la reacción de ABTS 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico) con persulfato potásico (2.45 mM, concentración final), incubados a temperatura ambiente (± 25 °C) y en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS^{•+}, se diluyó con agua desionizada hasta obtener un valor de absorbancia de 0.70 (± 0.1) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorción). Se realizó una curva de calibración estándar utilizando diferentes concentraciones (0, 10, 20, 30, 40 y 50 mg/L de trolox). Se tomaron 20 μ l de cada concentración y se les adicionó 980 μ l de dilución del radical ABTS^{•+}, dejando reposar durante 7 min, para finalmente determinar la absorbancia a 754 nm, empleando un lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA). Los resultados fueron expresados en mg Equivalentes de trolox por 100 g de muestra liofilizada (mg ET/100 g muestra).

6.4.2 Actividad antirradical por el método DPPH[•]

La actividad antirradical se determinó de acuerdo al procedimiento reportado por Morales y Jiménez (2001), en el cual se realizó una curva de calibración estándar con 0, 50, 100, 200 y 300 mg/L de trolox, posteriormente se agregaron en microtubos de 1.5 ml color ámbar 100 μ l de extractos y 500 μ l de solución DPPH (1,1-Difenil-2-Picrilhidracil), se agitaron en vortex y se dejaron reposar 1 hora a temperatura ambiente, posteriormente se determinó la absorbancia a 520 nm, empleando lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA). Los resultados fueron expresados en μ mol equivalentes de trolox por 100 g de muestra liofilizada (μ mol ET/100 g muestra).

6.4.3 Actividad quelante

La actividad quelante se determinó por el método reportado por Gulcin *et al.* (2003), en el cual se colocaron en microtubos de 1.5 ml color ámbar 100 µl de extractos y 50 µl de solución de cloruro férrico (II) tetrahidratado al 2 mM y 450 µl de metanol, además de 400 µl de ferrozina 5 mM, la solución se agitó en el vórtex y se dejó reposar durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se determinó la absorbancia a 562 nm en lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA). La actividad quelante se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Actividad quelante} = ((A_0 - A_1) / A_0) * 100$$

En donde:

A₀ = Absorbancia de la muestra control (agua)

A₁ = Absorbancia de la muestra problema

6.5 Actividad Antimicrobiana

6.5.1 Extracción de compuestos Antimicrobianos

Para la actividad antimicrobiana se realizó una extracción metanólica, diferente a la extracción de compuestos antioxidantes, obteniendo un aceite, el cual se utilizó para realizar actividad antimicrobiana, dicha extracción se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Gulcin *et al.* (2003) modificada en el presente estudio, por lo que se pesó 10 g de muestra liofilizada y se colocó en matraz Erlenmeyer de 500 ml, después se adiciono 200 ml de metanol y se colocaron en agitación durante 30 min a 50 °C a 300 rpm. Posteriormente los extractos obtenidos se filtraron sobre papel Whatman No.1, y se concentraron en un rotaevaporador (Büchi, tipo R-200n) a 50 °C, eliminando el solvente presente en las muestras. Finalmente los extractos se mantuvieron en congelación a -33 °C hasta su uso.

6.5.2 Cepas Bacterianas y medios de cultivo

Para la determinación de la actividad antimicrobiana, se utilizaron las cepas bacterianas de *Escherichia coli* MC4100 derivada de la *E. coli* K-12 MG1655, esta última es derivada de la K-12 silvestre (obtenida a partir de una muestra de materia fecal de un paciente de difteria en Palo Alto, CA en 1922), *Staphylococcus aureus* ATCC1654, donada por el Dr. Marco Antonio Becerril Flores, del Área académica de Medicina de la UAEH, y la cepa *Aspergillus niger* ATCC 6275, fue donada por el Dr. Guillermo Aguiar Osorio del Departamento de Alimentos y Biotecnología de la Fac. de Química de la UNAM. Las cuales se mantienen en la colección microbiana del laboratorio de Nutrigenómica.

Los cultivos bacterianos de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* se sembraron sobre agar Luria-Bertani (LB), mediante la técnica de estría en placa y se incubaron por 12 horas a 37 °C en una incubadora (Felisa Mod. FE133D) para cultivo de microorganismos (Ausubel *et al.*, 1998).

La cepa *Aspergillus niger* se propagó y conservó en tubos de medio inclinado de papa dextrosa agar (PDA), por un periodo de 72 horas, a una temperatura de 37 °C.

6.5.3 Determinación de actividad antimicrobiana

Una vez obtenidas las colonias aisladas de *Escherichia coli* MC4100 y *Staphylococcus aureus* ATCC1654, se tomó una colonia de bacterias y se resuspendió en 5 ml de medio LB, los cuales se incubaron con agitación constante (JELOTECH typ-51600) durante 12 horas a 37 °C y 200 rpm. Transcurrido el tiempo se realizó una dilución para sembrar una concentración de 1×10^8 células, que se esparcieron con una varilla de vidrio sobre el agar en el que posteriormente se hicieron pozos (7 mm de diámetro y 4.6 mm de profundidad) debido a que la consistencia de los extractos impidió la utilización de sensidiscos (Ausubel *et al.*, 1998).

Con lo que respecta a *Aspergillus niger* ATCC 6275, este microorganismo fue propagado y conservado en tubos con medio inclinado de papa dextrosa agar (PDA), por un periodo de 72 horas, a una temperatura de 37 °C, una vez que los cultivos esporularon fueron raspados con el asa de siembra y cosechados

mediante la adición de una solución estéril de Tween al 0.1% e inoculados a una concentración final de 1×10^6 esporas/ml de medio, lo cual se determinó mediante el empleo de la cámara de Neubaver y un microscopio óptico (Lomo Mod. BMH4BF). Las esporas se esparcieron con una varilla de vidrio sobre la caja con medio en donde posteriormente se hicieron los pozos (7 mm de diámetro y 4.6 mm de profundidad) debido a que como se mencionó anteriormente, la consistencia de los extractos impidió la utilización de sensidiscos (Delgado, 1993). En los pozos se agregaron 50 μ l de extractos metanólicos previamente concentrados, para finalmente incubar las placas de bacterias por 12 horas y las del hongo filamentosos por 72 horas, ambos a 37 °C. Para todos los microorganismos se usó como control ampicilina, los ensayos se llevaron a cabo por triplicado para cada uno de los extractos. La actividad antimicrobiana se determinó como el diámetro en milímetros del halo de inhibición del crecimiento.

6.6 Análisis estadístico

Las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como la media \pm desviación estándar. Los resultados se obtuvieron mediante un análisis unidireccional de varianza (ANOVA) y las diferencias entre las medias se determinaron utilizando el test Student-Newman-Keuls (S.N.K.) con un nivel de significancia de $p < 0.05$. Se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 15.0 para Windows.

7 Resultados y discusión

Los resultados correspondientes a la capacidad antioxidante de las frutas y verduras, dependerán de diferentes condicionantes, como su región geográfica, la parte usada del alimento (epidermis, hojas, tallo, semillas, etc.), así como su estado (natural o procesado). Los siguientes resultados obtenidos en éste estudio son presentados en los gráficos 11-14 considerando la base seca (bs) de las muestras, además se realizó su conversión a base húmeda con el objeto de realizar una comparación con lo reportado en la bibliografía, como se presentan en las tablas 3-6.

7.1 Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT)

Se realizó la determinación del CFT, lo cual mostró una variación entre las diferentes frutas y verduras como se puede observar en la figura 15, así como su comparación con otros estudios en la tabla 3, pudiendo resaltar que la guayaba presentó el mayor contenido de estos compuestos con 3,323 mg EAG/100 g bs (631.43 mg EAG/100 g bh), comparado con Rojas y Narvárez (2009) se encontró que su contenido de CFT fue similar, a diferencia de lo reportado por Thaipong *et al.* (2006) donde indican un valor inferior (Tabla 3).

La verdolaga también destacó por su contenido de compuestos fenólicos, con un valor de 2,416 EAG/100 g bs (362.5 mg EAG/100 g bh), valor superior a lo reportado por Macias (2013). Mientras que el aguacate fue el fruto que mostró el menor contenido de compuestos fenólicos con 76 mg EAG/100 g bs (21.11 mg EAG/100 g bh), valor inferior a lo reportado por Morillas y Delgado (2012). Finalmente la calabaza es un vegetal que se consume cocido, lo cual genera que ocurran una serie de cambios en sus características físicas y químicas, Turkmen *et al.* (2005), mencionan que con la cocción de los alimentos se disminuye el contenido de compuestos fenólicos totales, lo cual se puede observar en el presente trabajo donde la calabaza cruda presentó un valor de 1,080 mg EAG/100 g bs (72.15 mg EAG/100 g bh), mientras que la calabaza cocida mostró una

evidente disminución de compuestos fenólicos totales por el efecto de la cocción, arrojando como resultado 226.67 mg EAG/100 g bs (18.13 mg EAG/100 g bh).

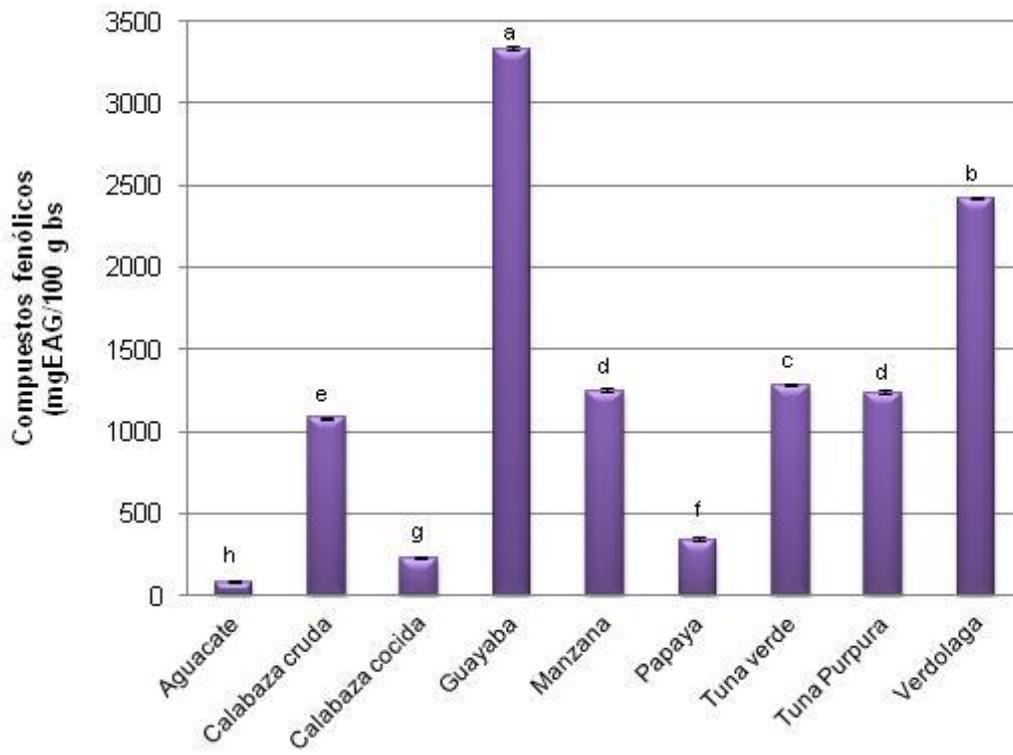


Figura 15.- Contenido de compuestos fenólicos totales en frutas y verduras de consumo común (mg EAG/100 g bs). Valores representados como el promedio \pm DE. Diferentes superíndices indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Tabla 3.- Comparación de los valores obtenidos de compuestos fenólicos totales con otros estudios publicados

Frutas y verduras	Presente estudio	Valores publicados	Referencias
Aguacate	76.66 mg EAG/100 g bs 21.11 mg EAG/100 g bh)	NR 59.79 mg EAG/100 g bh.	Morillas y Delgado (2012)
Calabaza cruda	1,080 mg EAG/100 g bs 72.15 mg EAG/100 g bh	NR 833.0 ± 37.79 mg EAG/100 g bh	Turkmen <i>et al.</i> (2005)
Calabaza cocida	226.67 mg EAG/100 g bs 18.13 mg EAG/100 g bh	497.3 ± 9.72 mg EAG/100 g bs NR	Turkmen <i>et al.</i> (2005)
Guayaba	3,323 mg EAG/100 g bs 631.43 mg EAG/100 g bh	2,329 a 3,577 mg EAG/100 g bs 344.9 mg EAG/100 g bh	Rojas y Narváez (2009) Thaipong <i>et al.</i> (2006)
Manzana	1,240 mg EAG/100 g bs 198.4 mg EAG/100 g bh	1,190 mg EAG/100 g bs 73.96 mg EAG/100 g bh	Muños y Ramos <i>et al.</i> (2007) Fu <i>et al.</i> (2011)
Papaya	333.33 mg EAG/100 g bs 30.26 mg EAG/100 g bh	NR 47.13 mg EAG/100 g bh 97.71 mg EAG/100 g bh	Fu <i>et al.</i> (2011) Morillas y Delgado (2012)
Tuna verde	1,283 mg EAG/100 g bs 192.5 mg EAG/100 g bh	294 mg EAG/100 g bs NR	Ramírez <i>et al.</i> (2011)
Tuna púrpura	1,236 mg EAG/100 g bs 185.5 mg EAG/100 g bh	NR 164.6 a 218.8 mg EAG/100 g bh	Fernández <i>et al.</i> (2010)
Verdolaga	2,416 EAG/100 g bs 362.5 mg EAG/100 g bh	1,477 EAG/100 g bs 89.2 mg EAG/100 g bh	Macías (2013)

NR. No Reportado

7.2 Concentración de ácido ascórbico

La evaluación del contenido de ácido ascórbico tanto de frutas y verduras, (Figura 16, Tabla 4) mostró que fue estadísticamente muy similar ($p < 0.05$), a excepción de la verdolaga, el aguacate y la guayaba, esta última presentó el valor más alto con 2,508.77 mg EAA/100g bs (102.63 mg EAA/100g bh), comparado con lo obtenido por Ordóñez y Vázquez (2012), donde su valor es cercano, mientras que Thaipong *et al.* (2006) reporta valores superiores (Tabla 4). Finalmente las muestras que obtuvieron el menor contenido de ácido ascórbico y que estadísticamente se comportaron igual ($p < 0.05$) fueron la verdolaga y el aguacate, que presentaron 377.19 mg EAA/100g bs (37.72 mg EAA/100g en bh) y 333.33 mg EAA/100g bs (91.8 mg EAA/100g bh) respectivamente, Macias (2013) indicó para la verdolaga un valor aproximado al obtenido en el presente estudio. El contenido de ácido ascórbico en la calabaza tuvo un incremento estadísticamente significativo ($p < 0.05$), ya que mientras la calabaza cruda mostró 640.35 mg EAA/100g bs la calabaza cocida, presentó 701.75 mg EAA/100g bs.

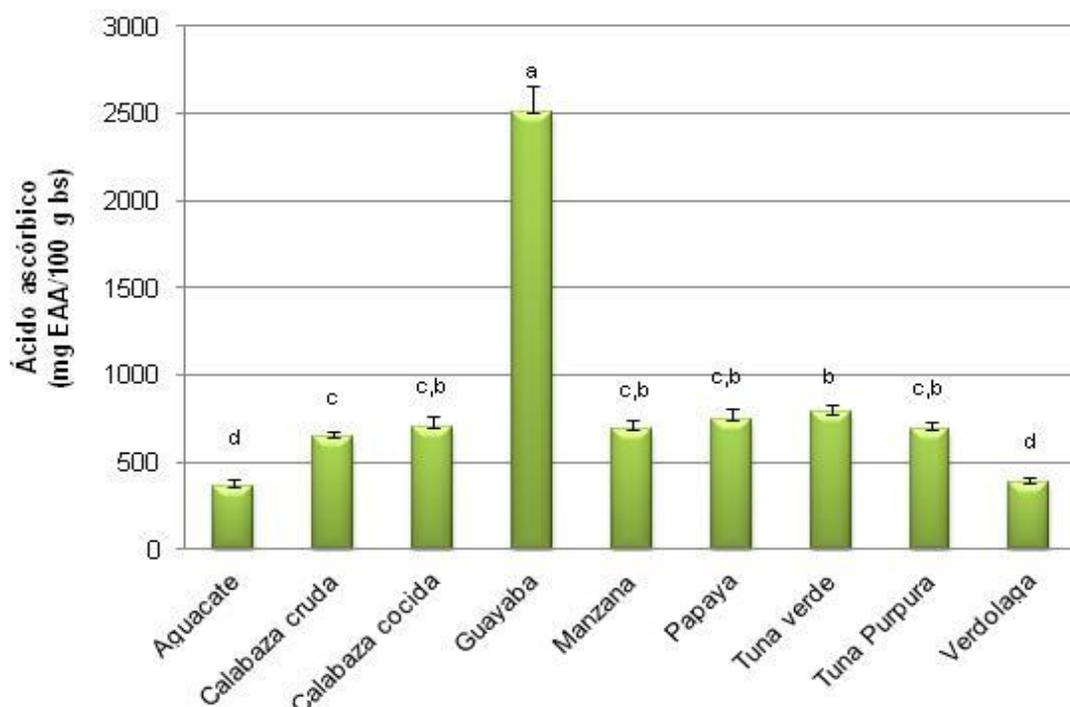


Figura 16.- Contenido de Ácido ascórbico en frutas y verduras de consumo común (mg EAA/100 g bs). Valores representados como el promedio \pm DE. Diferentes superíndices indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Tabla 4.- Comparación de los valores obtenidos de ácido ascórbico con otros estudios publicados

Frutas y verduras	Presente estudio	Valores publicados	Referencias
Aguacate	333.33 mg EAA/100 g bs	NR	
	91.8 mg EAA/100 g bh	59.79 mg EAG/100 g bh.	Morillas y Delgado (2012)
Calabaza cruda	640.35 mg EAA/100 g bs	NR	
	42.78 mg EAA/100 g bh	12 a 15 mg EAA/100 g bh	Szeto, <i>et al.</i> (2002) Reportado para cebolla, coliflor y tomate*
Calabaza cocida	701.75 mg EAA/100 g bs	172 a 292 mg EAA/100 g bs	Macías (2013) Reportado para huauzontle y romeritos cocidos*
	56.14 mg EAA/100 g bh	NR	
Guayaba	2,508 mg EAA/100 g bs	NR	
	102.63 mg EAA/100 g bh	164.25 mg EAA/100 g bh. 378.6 mg EAA/100 g bh.	Ordóñez y Vázquez (2012) Thaipong <i>et al.</i> (2006)
Manzana	684.21 mg EAA/100 g bs	NR	
	109.47 mg EAA/100 g bh	<5 mg EAA/100 g bh	Szeto <i>et al.</i> (2002)
Papaya	745.61 mg EAA/100 g bs	NR	
	67.70 mg EAA/100 g bh	71.3 a 89.6 mg EAA/100 g bh	Acosta <i>et al.</i> , (2001)
Tuna verde	780.70 mg EAA/100 g bs	NR	
	102.63 mg EAA/100 g bh	45.8 mg EAA/100 g bh.	Kuti (2004)
Tuna púrpura	684.21 mg EAA/100 g bs	NR	
	102.63 mg EAA/100g bh	12.1 mg EAA/100 g bh 14.5 a 23.3. mg EAA/100 g bh	Kuti, (2004) Fernández <i>et al.</i> (2010)
Verdolaga	377.19 mg EAA/100 g bs	305.88 mg EAA/100 g bs	Macías (2013)
	37.72 mg EAA/100 g en bh	NR	

*Se comparó con otras verduras, debido a que no hay reportes con la verdura utilizada en el presente estudio.

NR. No reportado

7.3 Actividad antioxidante por método ABTS⁺

Los resultados obtenidos se pueden observar en la figura 17 y su comparación con otros estudios en la tabla 5, donde se indica que el aguacate presentó el contenido más alto de actividad antioxidante con 21,666.67 $\mu\text{mol ET}/100\text{g bs}$ (5,967 $\mu\text{mol ET}/100\text{g bh}$), comparado con lo reportado por Pellegrini *et al.* (2003) quienes indican un valor inferior. La guayaba mostró 17,500 $\mu\text{mol ET}/100\text{g bs}$ (3,325 $\mu\text{mol ET}/100\text{g bh}$), valor inferior a lo reportado por Restrepo *et al.* (2009), a diferencia de Rojas y Narváez (2009) quienes al trabajar con diversas variedades de guayaba reportan una actividad antioxidante variable y en donde los valores del presente trabajo se encuentran dentro de su rango.

La papaya fue la muestra que tuvo la menor actividad antioxidante con 5,388.89 $\mu\text{mol ET}/100\text{g bs}$ (489.31 $\mu\text{mol ET}/100\text{g bh}$), a diferencia de lo reportado por Fu *et al.* (2011) donde obtuvieron valores inferiores. Al igual que en las pruebas anteriores se puede observar cambios significativos por el efecto de la cocción, en el caso de la actividad antioxidante la calabaza cruda presentó una actividad de 12,888.89 $\mu\text{mol ET}/100\text{g bs}$ (860.98 $\mu\text{mol ET}/100\text{g bh}$), mientras que la calabaza cocida tuvo 6,861.11 $\mu\text{mol ET}/100\text{g bs}$ (1,106.67 $\mu\text{mol ET}/100\text{g bh}$) resultados superiores según lo reportado por Triantis *et al.* (2005) para otros vegetales

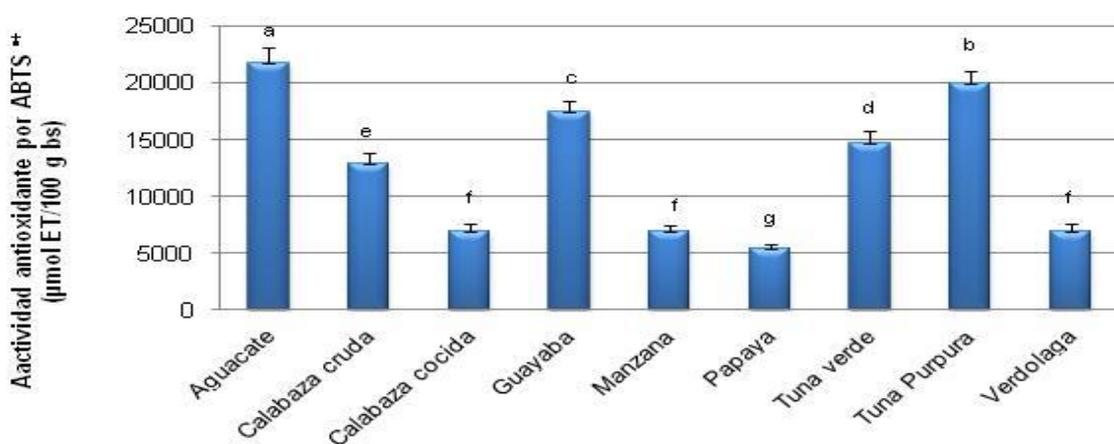


Figura 17.- Actividad antioxidante por método ABTS⁺ en frutas y verduras de consumo común ($\mu\text{mol ET}/100\text{g bs}$). Valores representados como el promedio $\pm\text{DE}$. Diferentes superíndices indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Tabla 5.- Comparación de los valores obtenidos de actividad antioxidante por método ABTS** con otros estudios publicados

Frutas y verduras	Presente estudio	Valores publicados	Referencias
Aguacate	21,666 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$	NR	
	5,967 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$	0.22 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$.	Pellegrini <i>et al.</i> (2003)
Calabaza cruda	12,888 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$	NR	
	860.98 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$	648 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$	Triantis <i>et al.</i> (2005) Reportado para cebolla *
Calabaza cocida	6,861 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$	NR	
	1,106 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$	532 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$	Triantis <i>et al.</i> (2005) Reportado para brócoli *
Guayaba	17,500 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$	16,600 a 84,600 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$.	Rojas y Narváez (2009)
	3,325 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$	11,800 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$	Restrepo <i>et al.</i> (2009)
Manzana	6,888 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$	NR	
	1,102 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$	462 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$.	Fu L. <i>et al.</i> (2011)
Papaya	5,388 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$	NR	
	489.31 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$	292 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$.	Fu <i>et al.</i> (2011)
Tuna verde	14,666 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$	1,066 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$	Ramírez <i>et al.</i> (2011)
	2,200 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$	NR	
Tuna púrpura	19,916 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$	890 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$	Ramírez <i>et al.</i> (2011)
	2,987 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$	NR	
Verdolaga	6,861 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$	NR	
	686.11 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$	107.2 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bh}$.	Macías (2013)

*Se comparó con otras verduras, debido a que no hay reportes con la verdura utilizada en el presente estudio.

NR: No Reportado

7.4 Actividad antioxidante por método DPPH•

La actividad antioxidante vista como DPPH• presente en los alimentos varia de un alimento a otro, lo cual se puede observar en la Figura 18, donde la guayaba mostró la mayor actividad antioxidante con un valor de 27,804.16 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ (5,294.66 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$), valor superior a lo reportado por Rojas y Narváez (2009) en diferentes variedades de guayaba (Tabla 6).

La papaya y el aguacate se comportaron estadísticamente similares ($p < 0.05$) presentando un valor de 3,147.92 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ (285.83 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$) y 2,950 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ (812.43 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$) respectivamente. Finalmente la menor actividad fue para la calabaza tanto cocida como cruda que presentaron 575 y 867 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$ y 46 y 57.89 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$ respectivamente, valores bajos si los comparamos con otros vegetales reportados por Triantis *et al.*, (2005), pudiendo resaltar que estadísticamente no existe una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre la calabaza cruda y la sometida a cocción lo que significa que ésta no causó daños a los compuestos antioxidantes determinados por el ensayo de DPPH•, resultado similar a lo reportado por Turkmen *et al.* (2005), quienes indican que tanto en la calabaza, como en los chicharos y puerros no se observó una diferencia en su contenido de actividad antioxidante, al someterlos a diferentes tipos de cocción.

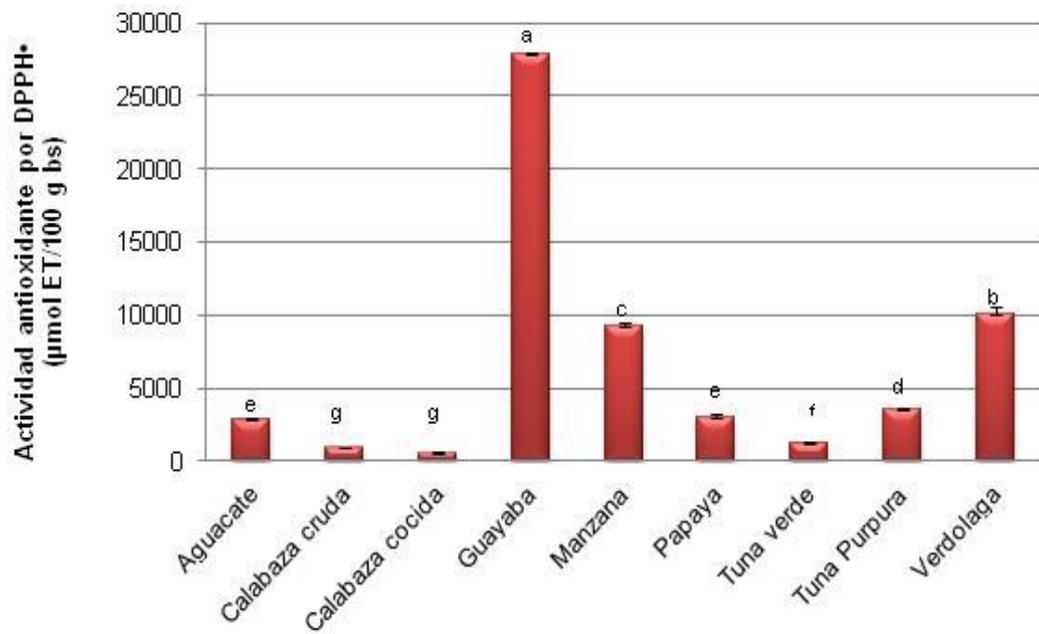


Figura 18.- Actividad antioxidante por método DPPH' en frutas y verduras de consumo común ($\mu\text{mol ET}/100 \text{ g bs}$). Valores representados como el promedio \pm DE. Diferentes superíndices indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Tabla 6.- Comparación de los valores obtenidos de actividad antioxidante por método DPPH* con otros estudios publicados

Frutas y Verduras	Presente estudio	Valores publicados	Referencias
Aguacate	2,950 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$	612 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$	Poovarodom <i>et al.</i> (2010)
	812.43 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$	NR	
Calabaza cocida	575 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$	200 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$	Triantis <i>et al.</i> (2005) Reportado para zanahoria, pepino y brócoli *
	46 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$	100 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$	
Calabaza cruda	867 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$	600 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$	
	57.89 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$		
Guayaba	27,804 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$	13,100 a 22,100 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$	Rojas y Narváez (2009)
	5,294 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$	NR	
Manzana	9,179 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$	NR	Triantis, <i>et al.</i> (2005)
	1,468 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$	1,400 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$	
Papaya	3,147 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$	NR	Rodríguez <i>et al.</i> (2010) Reportado para papayuela *
	285.83 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$	300 a 320 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$	
Tuna verde	1,231 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$	NR	Kuskoski <i>et al.</i> (2005) Reportado para piña*
	184.68 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$	60 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$	
Tuna púrpura	3,377 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$	NR	Kuskoski <i>et al.</i> (2005) Reportado para guanábana y mora*
	506.56 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$	450 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$ 590 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$	
Verdolaga	10,075 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$	875.31 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bs}$	Macías, (2013)
	1,007 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g bh}$	NR	

*Se comparó con otras verduras, debido a que no hay reportes con la verdura utilizada en el presente estudio.

NR: No Reportado

7.5 Actividad quelante

Los productos obtenidos en las pruebas de actividad quelante presentaron resultados negativos, lo que puede significar que los antioxidantes contenidos en las frutas y verduras estudiadas o los extractos obtenidos no mostraron este mecanismo de acción. A diferencia de lo reportado por Sumaya *et al.* (2011) quienes indican que diferentes variedades de tuna nacional, sí manifiestan actividad quelante, de igual forma Cruz *et al.* (2013) y Zafra *et al.* (2013) reportan que los jugos de tuna verde y tuna púrpura que utilizaron exhibieron una actividad quelante de 54,2 % y $69.1 \pm 1.0\%$ respectivamente.

7.6 Actividad antimicrobiana

La contaminación microbiana de los alimentos no sólo da lugar al deterioro de éstos, sino también a la reducción de su vida útil, lo que conduce al aumento de la incidencia de enfermedades por el crecimiento de microorganismos en productos alimenticios, provocando enfermedades como trastornos intestinales, vómitos y diarrea, junto con las implicaciones sociales y las pérdidas económicas resultantes, lo que implica un esfuerzo constante para producir alimentos más seguros. (Ye *et al.*, 2013; Bajpi *et al.*, 2008).

La actividad antimicrobiana de hierbas y plantas es generalmente atribuida a los compuestos fenólicos presentes en sus extractos o aceites esenciales, que poseen componentes biológicamente activos y que tienen una influencia positiva sobre la salud (Rodríguez, 2011). En este caso no todos los aceites de las frutas y verduras de estudio mostraron actividad antimicrobiana, pudiendo resaltar que ninguno de los aceites de las verduras utilizadas en el presente estudio presentó dicha actividad a diferencia de algunos aceites de las frutas las cuales solamente generaron inhibición frente a *Escherichia coli*, como la papaya, la cual produjo un halo de inhibición de 15.66 ± 0.57 mm, la tuna verde con 25.00 ± 0.0 mm y finalmente la tuna púrpura presentó 23.00 ± 0.0 mm, (Tabla 7), al compararlo con otros trabajos como Hayek e Ibrahim (2012), donde reportan que extractos de xoconostle tuvieron un halo de inhibición frente a una cepa de *E.coli* de 1.40 ± 0.3 mm utilizando 200 μ l de muestras, valor inferior a lo obtenido, ya que las frutas y verduras de estudio presentaron una mayor zona de inhibición.

Para la cepa de *Staphylococcus aureus* sólo se pudo observar un halo de inhibición con los aceites de manzana de 12.34 ± 0.57 mm, 13.00 ± 0.0 mm y para los aceites de papaya y guayaba con 18.34 ± 0.57 mm, al comparar los resultados con lo reportado por Gulcin *et al.* (2003) para el anís, que presentó un halo de inhibición de 9 mm valor inferior a lo encontrado. Lo anterior puede explicarse, debido a que las muestras utilizadas en este estudio fueron concentrados (liofilizados) de las frutas y verduras en fresco.

Finalmente para la cepa de *Aspergillus niger*, ninguna de las pruebas de estudio mostró este mecanismo de inhibición, resultado similar a lo encontrado por Ruiz y Roque (2007) quienes utilizaron extractos metanólicos de las plantas *Cassia*

reticulata, *Ilex guayusa* Loes y *Piper lineatum*, también sobre una cepa de *Aspergillus niger*.

Es importante mencionar, que si bien existen evidencias científicas de la actividad antimicrobiana sobre frutas y verduras, éstos estudios se han realizado en distintas partes de estos vegetales, utilizando hojas, cascaras o semillas lo que impide que se pueda comparar con el presente estudio, donde se utilizó la parte comestible del fruto o verdura.

Tabla 7.- Actividad antimicrobiana

Extracto	Microorganismo	Diámetro del halo de inhibición (mm)	Diámetro del halo de inhibición Ampicilina 10µg (mm)
Aguacate	<i>E. coli</i>	ND	17
	<i>S. aureus</i>	ND	19
	<i>A. niger</i>	ND	ND
Calabaza cocida	<i>E. coli</i>	ND	17
	<i>S. aureus</i>	ND	19
	<i>A. niger</i>	ND	ND
Calabaza cruda	<i>E. coli</i>	ND	17
	<i>S. aureus</i>	ND	19
	<i>A. niger</i>	ND	ND
Guayaba	<i>E. coli</i>	ND	17
	<i>S. aureus</i>	18.34 ± 0.57	19
	<i>A. niger</i>	ND	ND
Manzana	<i>E. coli</i>	ND	17
	<i>S. aureus</i>	12.34 ± 0.57	19
	<i>A. niger</i>	ND	ND
Papaya	<i>E. coli</i>	15.66 ± 0.57	17
	<i>S. aureus</i>	13.00±0.0.0	19
	<i>A. niger</i>	ND	ND
Tuna verde	<i>E. coli</i>	25.00 ± 0.00	17
	<i>S. aureus</i>	ND	19
	<i>A. niger</i>	ND	ND
Tuna púrpura	<i>E. coli</i>	23.0 ±0.00	17
	<i>S. aureus</i>	ND	19
	<i>A. niger</i>	ND	ND
Verdolaga	<i>E. coli</i>	ND	17
	<i>S. aureus</i>	ND	19
	<i>A. niger</i>	ND	ND

ND, No detectada

8 Conclusiones

La guayaba destacó entre las frutas y vegetales analizados, pues presentó un alto contenido de compuestos fenólicos totales, ácido ascórbico, y mayor actividad antioxidante por el método de DPPH•.

La tuna verde mostró un alto contenido de compuestos fenólicos totales y ácido ascórbico. La manzana y la verdolaga presentaron alta actividad antioxidante únicamente por el método de DPPH•, la verdolaga también presentó un elevado contenido de compuestos fenólicos. El aguacate y la tuna púrpura mostraron alta actividad antioxidante únicamente por el método ABTS•+.

Los compuestos antioxidantes contenidos en la calabaza y determinados por el método de DPPH• muestran una mayor resistencia al tratamiento térmico, a diferencia de los compuestos fenólicos, ácido ascórbico y actividad antioxidante determinada por ABTS•+.

Las frutas y verduras analizadas en el presente estudio no revelaron actividad quelante.

Las verduras analizadas no reportaron actividad antimicrobiana mientras que las frutas analizadas presentaron baja actividad antibacteriana y nula actividad antifúngica.

Los aceites de la papaya, tuna verde y tuna púrpura mostraron actividad antimicrobiana específicamente para *Escherichia coli*, mientras que la guayaba manzana y papaya revelaron esta actividad frente a *Staphilococcus aureus*.

La tuna púrpura presentó mayor actividad antimicrobiana que la tuna verde.

9 Referencias

- Acosta, R. M., Nieto, Á. D., Domínguez, Á. J. y Delgadillo-S. F. 2001. Calidad y tolerancia en frutos de papaya (*Carica papaya* L.) a la inoculación del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., en postcosecha. *Revista. Chapingo. Serie Horticultura*. 7(1): 119-130.
- Ahmadi, F., Sadeghi, S., Modarresi, M., Abiri, R. y Mikaeli, A. 2010. Chemical composition, invitro anti-microbial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil and methanolic extract of *Hymenocrater longiflorus* Benth, of Iran. *Food. Chem. Toxicol.* 48 (5): 1137–1144.
- Alam, Md. N., Bristi, N. J. y Rafiquzzaman, Md. 2012. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi. Pharm. J.* 21 (2): 143-152.
- Alonso, O. B., Lorenzo, G. F., y Navarro, B. I. 2001. Estructura química. Propiedades fisicoquímicas y Biodisponibilidad En: *Carotenoides y salud humana*. Editorial Fundación Española de la Nutrición, Madrid, pp.13-21.
- Ausubel, M. F., Brent, R., Kingston, E. R., Moore D., Seidman G. J., Smith A. J., y Struhl, K. 2002. *Escherichia coli*, plasmids, and bacteriophages. En: *Short protocols in molecular biology*. Cuarta Edición. John Wile & Sons, Inc., United States of America. pp: 1-8.
- Avello, M., y Suwalsky, M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea. Concepción*. 494: 161-172.
- Bajpai, V. K., Rahman, A., Dung, N. T., Huh, M. K., y Kang, S. C. 2008. In vitro inhibition of food spoilage and food borne pathogenic bacteria by essential oil and leaf extracts of *Magnolia liliflora* Desr. *J. Food. Sci.* 73 (6): 314-320.
- Barbosa, K. B., Bressan, J., Zulet, M. A. y Martinez, J. A. 2008. Influencia de la dieta sobre marcadores plasmáticos de estrés oxidativo en humanos. *Anales. Sis. San. Navarra*. 31(3): 259-280.
- Benítez, V. J., López, V. J., Kusch, F., Gajardo, S., Jorquera, A. G., Salazar, R. G., y Rojas, A. M. 2010. Actividad antioxidante, antibacteriana y analgésica de extractos de *Mangifera indica* L. variedad pica. *BIOFARBO*. 18 (2): 10–19.

Carocho, M., y Ferreira, I. 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food. Chem. Toxicol.* 51: 15–25.

Control calidad SEIMC. *Aspergillus y aspergilosis*.

En: <http://www.seimc.org/control/revisiones/micologia/asperguillus.pdf>

Fecha de consulta: 04/12/2013.

Cruz, C. N., Pérez, C. G., Zafra, R. Q., Delgado, O. L., Alanís G. E. y Ramírez, M. E. 2013. Ultrasound Processing on Green Cactus Pear (*Opuntia ficus Indica*) Juice: Physical, Microbiological and Antioxidant Properties. *J. Food. Process. Technol.* 4 (9):1-6.

Delgado-Olivares, L. 1993. Producción y propiedades de las pectinasas extracelulares de *Aspergillus sp.* CH-Y-1043. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. pp: 22.

Delgado-Olivares, L., Betanzos, C. G., y Sumaya, M. 2010. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *INVEST. CIENC.* 50: 10-15.

Dürüst, N. Dogan, S., y Dürüst, Y. 1997. Ascorbic acid and element contents of foods of Trabzon (Turkey). *J. Agric. Food. Chem.* 45 (6): 2085–2087.

Dorado, M. C., Rugerio, V. C., y Rivas, A. S. 2003. Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Rev. Fac. Med. UNAM.* 46 (6): 229-235.

Dolz, Z. P. 2008. Evaluación de la calidad de fruto en manzano: estudio de métodos no destructivos de análisis. Memoria. Escuela Universitaria Politécnica la Almunia. pp: 5-6.

Earth eats. Ground Beef Recalled After Testing For Dangerous *E. coli*.

En:<http://indianapublicmedia.org/earth eats/ground-beef-recalled-testing-dangerous-ecoli/>

Fecha de consulta: 29/07/2014

E-journal-UNAM

En: <http://www.ejournal.unam.mx/cns/no42/CNS04210.pdf>

Fecha de consulta: 29/07/2014.

Eroski Consumer. Alimentación contra el envejecimiento.

En: <http://revista.consumer.es/web/es/20060901/alimentacion/70676.php>

Fecha de consulta: 30/07/2013.

- Fernández, L., Almela, L., Obón, M. y Castellar, R. 2010. Determination of antioxidant constituents in cactus pear fruits. *Plant. Food. Hum. Nutr.* 65 (3): 253-259.
- García, P. M. 2008. Antioxidantes en la dieta Mediterránea. *Nutr. Clin. Med.* 2 (3): 129-140.
- García, P. E. y Castro, M. E. 2008. El aguacate en México, origen y amenazas. *Rev. Cienc. y Desarro.* 34 (225): 16-22.
- Fu, L., Xu, B. T., Xu, X. R., Gan, R. Y., Zhang, Y., Xia, E. Q., y Li, H. B. 2011. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food. Chem.* 129 (2): 345-350.
- García, A. F. 2005. Evaluación *in vivo* e *in vitro* de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes. Tesis doctoral. Universidad de Murcia. pp: 40-44.
- Gavira, M. C., Ochoa, O. C., Sánchez, M. N., Medina, C. C., Lobo, A. M., Galeano, G. P., Mosquera, M. A., Tamayo, T. A., Lopera, P. Y. y Rojano, B. 2009. Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium meridionale SW*). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas.* 8 (6): 519-528.
- Gerard, J. T., Berdell, R. F., y Christine, L. C. Bacterias gram positivas. En: *Introducción a la microbiología.* 9ª Edición. Editorial Médica Panamericana S. A. Argentina pp. 333.
- Gulcin, I., Buyukokuroglu, M. E., y Kufrevioglu, O. I. 2003. Metal chelating and hydrogen peroxidescavenging effects of melatonin. *J. Pineal. Res.* 34 (4): 278–281.
- Gulcin, I., Oktay, M., Kirecci, E., y Kufrevioglu, O. I. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum L.*) seed extracts. *Food. Chem.* 83 (3): 371-382.
- Gutiérrez, M. T., Hoyos, L. O. y Páez, I. M. 2007 Determinación del contenido de ácido ascórbico en uchuva (*Physalis peruviana L.*), por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). *Facultad de Ciencias Agropecuarias.* 72(5): 70-79.
- Gutiérrez, Z. A., Ledesma, R. L., García, G. I., y Grajales, C. O. 2007. Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. *Rev. Cubana. Salud pública.* 33 (1).
- Obtenido en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=21433108>

- Hayek, S. A. e Ibrahim S. A. 2012. Antimicrobial activity of xoconostle pears (*Opuntia matudae*) against *Escherichia coli* O157:H7 in laboratory medium. *Int. J. Microbiology*. (1): 1-6.
- Henufood Grupos de alimentos y su importancia para la salud: Parte I (Frutas, verduras y hortalizas)
En:<http://www.henufood.com/nutricion-salud/aprende-a-comer/grupos-de-alimentos-y-su-importancia-para-la-salud-parte-i-frutas-verduras-y-hortalizas/>
Fecha de consulta: 20/12/2013
- Ismail, A., Marjan, Z. M. y Foong, C. W. 2004. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food. Chem.* 87 (4): 581–586.
- Jacoby, E., y Keller, I. 2006. La promoción del consumo de frutas y verduras en América latina: buena oportunidad de acción intersectorial por una alimentación saludable. *Rev. Chil. Nutr.* 33 (1): 226-231.
- IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) *Biochem. J.* 1991. 273:1-19).
- Jiménez-R. A., Domínguez, G. V., y Amaya, C. A. 2011. El papel del estrés oxidativo en la disfunción endotelial de la aterosclerosis. *CIENCIA ergo*, 17(3): 258-268.
- Jordá, B. G., Marucci, S. R., Guida, A. M., Pires, S. P. y Manfredi, A. E. Portación y caracterización de *Staphylococcus aureus* en manipuladores de alimentos. *Rev. argent. microbiol.* 44 (2):1-6.
- Kaur, C. y Kapoor, H. C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables. The millennium's health. *Int. J. Food. Sci. Technol.* 36 (7): 703–725.
- Kim, H., Choi, H. K., Moon, J. Y. Kim, Y. S., Mosaddik, A. y Cho, S. K. 2010. Comparative antioxidant and antiproliferative activities of red and white pitayas and their correlation with flavonoid and polyphenol content. *J. Food. Sci.* 76 (1): C38- C45.
- Kuskoski, E., Asuero A. G., Troncoso, A. M., G., J. Mancini-Filho, y Fett R., 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food. Sci. Technol.* 25 (4): 726-732.
- Kuti, O. J., 2004. Antioxidant compounds from four *Opuntia cactus* pear fruit varieties. *Food. Chem.* 85 (4) 527–533.

- Liu, R. H. 2003. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am. J. Clin. Nutr.* 78 (3): 517S-520S.
- Macías, L. F., 2013. Evaluación del efecto térmico sobre las características nutricionales, compuestos antioxidantes y propiedades fisicoquímicas en cinco plantas de consumo popular en México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. pp. 43-46.
- Morales, F. J. y Jiménez-Pérez, S. 2001. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to color and fluorescence. *Food. Chem.* 72 (1): 119–125.
- Morales, R. A. y Cervantes, E. A. 2011. Efecto del tratamiento térmico sobre la actividad antioxidante y azúcares reductores del jugo de tuna durante su almacenamiento. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. pp. 15
- Morillas, R. y Delgado, A. 2012. Análisis nutricional de alimentos vegetales con diferentes orígenes: Evaluación de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales. *Nutr. clin. diet. hosp.* 32 (2): 8-20.
- Muños, J. A. y Ramos, E. F. 2007. Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. *Horiz. Med.* 7 (1): 23-31.
- National Microbial Pathogen Data Resource NMPDR. Staphylococcus.
En: <http://www.nmpdr.org/FIG/wiki/view.cgi/Main/Staphylococcus>
Fecha de consulta: 6/08/14
- Ordóñez, S. L., E.; Vázquez, R. A. 2012. Cambios en la concentración de ácido ascórbico en el procesamiento de frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Vitae.* 19 (1): S84-S86.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO. Prevención de la *E. coli* en los alimentos.
En: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecoli_es.pdf
Fecha de consulta: 28/06/13.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO. Ficha técnica guayaba (*Psidium guajava*).
En: http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ae620s/pfrescos/GUAYABA.HTM.
Fecha de consulta: 15/07/14

- Pabón, B. L., Vanegas, G. J., Rendón, F.M., Santos, A. R., y Hernández, R. P. 2013. Actividad antioxidante y antibacteriana de extractos de hojas de cuatro especies agroforestales de la *Orinoquía* colombiana. *Rev. Cubana. Plant. Med.* 18 (1): 57-70.
- Paniagua, V. M, Gómez, P. B., y Pérez, C. R. 2004. El envejecimiento y los radicales libres. *Ciencias.* 75: 36-46.
- Pascual, A. M., y Calderón, P. V. 2000. Investigación y recuento de *Escherichia coli*, Investigación y recuento de *Staphylococcus aureus*. En: *Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebida*. Segunda edición, Díaz de Santos S.A. Madrid España pp. 21,77.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi M. y Brighenti, F. 2003. Total antioxidant capacity of plantf, Beverages and oils consumed in Italy assessed by three different In vitro assays. *J. Nutr.* 133 (9): 2812–2819.
- Piao, X. L., Mi, X. Y., Tian, Y. Z., Wu Q., Piao, H. S, Zeng, Z, Wang, D., y Piao X. 2009. Rapid Identification and characterization of antioxidants from *Ligularia fischeri*. *Arch. Pharm. Res.* 32 (12): 1689-1694.
- Poovarodom, S., Haruenkit, R., Vearasilp, S., Namiesnik, J., Cvikrova, M., Martincova, O., Ezra, A., Suhaj, M., Ruamsuke, P. y Gorinstein, S. 2010. Comparative characterisation of durian, mango and avocado. *Int. J. Food. Sci. Technol.* 45 (5): 921-929.
- Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food. Chem.* 53 (10):4290-4302.
- Propayapa. Estudio de oportunidades de mercado e inteligencia comercial internacional de la papaya mexicana e identificación de necesidades de infraestructura logística.
En:http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/Estudios_promercado/PAPAYA2009.pdf.
- Fecha de consulta: 04/07/2014.
- Ramírez, H. Rancaño, A. J., Benavides M. A., Mendoza V. R. y Padrón-Corral, E. 2006. Influencia de promotores de oxidación controlada en hortalizas y su relación con antioxidantes. *Rev. Chapingo. Serie. Horticultura.* 12 (2): 189-195.

- Ramírez, M. E., Alanís, G. E., Delgado, O. L., y Cruz, C. N. 2013. Análisis químico cuali-cuantitativo de los alimentos y nutrientes de la dieta. En: *Evaluación del estado de nutrición del adulto mayor: métodos, técnicas e instrumentos*. Primera edición. Editorial Universitaria de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca Hidalgo, México. pp, 313-314.
- Ramírez, M. E., Hervert, H. D., Sanchez, M. M., Díez, M. C. y Goñi, I. 2011. Intestinal bioaccessibility of polyphenols and antioxidant capacity of pulp and seeds of cactus pear. *Int. J. Food. Sci. Nutr.* 62 (8): 839-843.
- Redondo, A. y Villanueva, Ma. D. 1997. Autoclaving affects on the dietary fibre content of carrots (*Daucus carota*) and turnips (*Basica napus*): and evaluation of different methods. *Z. Lebensm. Unters. For.* 205 (6): 457-463
- Restrepo, S. D., Narváez, C. C. y Restrepo, S. L. 2009. Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en Vélez- Santander, Colombia. *Quim. Nova.* 32 (6): 1517-1522.
- Rodríguez, A.G., 2002, Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia*. *Salud pública México.* 44 (5): 464-475.26.
- Rodríguez, L., López, L. y García M. 2010. Determinación de la composición química y actividad antioxidante en distintos estados de madurez de frutas de consumo habitual en Colombia, mora (*Rubus glaucus* B.), maracuyá (*Passiflora edulis* S.), guayaba (*Psidium guajava* L.) y papayuela (*Carica cundinamarcensis* J.). *Rev. Aliment. Hoy. Colomb.* 19 (21): 1-9.
- Rodríguez, S. E. 2011. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *RaXimhai.* 7 (1): 153-170.
- Rojas, B. D. y Narváez, C. C. 2009. Determinación de vitamina C, compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de frutas de guayaba (*Psidium guajava* L.) cultivadas en Colombia. *Quim. Nova.* 32 (9): 2336-2340.
- Sáez, V. A., Flórez, V. L., y Cadavid, R. A. 2012. Caracterización de una cepa nativa de aspergillus niger y evaluación de la producción de ácido cítrico. *Rev. Univ. EAFIT.* 38 (128): 33-42.
- Saeed, A. H., y Salam, A. I. 2012. Antimicrobial Activity of Xoconostle Pears (*Opuntia matudae*) against *Escherichia coli* O157:H7 in Laboratory Medium. *Int. J. Microbiology.* doi:10.1155/2012/368472.
- Saura-Calixto, F., Serrano, J., y Goñi, I. 2007. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food. Chem.* 101 (2): 492-501.

- Stintzing, F. C., Herbach, K. M., Mosshammer, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellapan, S., Akoh, C. C., Bunch, R., y Felker, P. 2005. Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia spp.*) clones. *J. Agric. Food. Chem.* 53 (2): 442-451.
- Sumaya, M. M., Jaime, C. S., Santillán, M. E., García, P. J., Cariño C. R., Cruz, C. N., Valadez, V. C., Martínez-C. L. y Alanís G. E. 2011. Betalain, acid ascorbic, phenolic contents and antioxidant properties of purple, red, yellow and white cactus pears. *Int. J. Mol. Sci.* 12 (10): 6452-6468.
- Szeto, Y.T., Tomlinson, B. y Benzie, F. F. 2002. Total antioxidant and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: implications for dietary planning and food preservation. *Br. J. Nutr.* 87 (1): 55–59
- Thaipong, K., Boonprakob, U. y Crosby, K., Cisneros, Z., y Byrne, H., 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J. Food. Compos. Anal.* 19 (6): 669–675.
- Turkmen, N., Sari, Y. y Velioglu, S. 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food. Chem.* 93(4): 713–718.
- Triantis, T., Stelakis, A., Dimotikali, D., y Papadopoulou, K. 2005. Investigations on the antioxidant activity of fruit and vegetable aqueous extracts on superoxide radical anion using chemiluminescence techniques. *Anal. Chim. Acta.* 536 (1-2): 101–105.
- Universidad Nacional Autónoma de México UNAM. Aspergilosis.
En: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/aspergilosis.html>
Fecha de consulta: 6/08/14.
- Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P., y Mahajan, R. T. 2009. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: A review of Upstream and Downstream antioxidant therapeutic options. *Curr. Neuropharmacol.* 7 (1): 65-74.
- Vergara, H. C. 2013. Extracción y estabilización de betalaínas de tuna púrpura (*Opuntia ficus indica*) mediante tecnología de membranas y microencapsulación, como colorante alimentario. Tesis para grado de doctor. Universidad de Chile. pp. 2-3.
- Ye, C. L., Dai, D. H. y Hu. W. L. 2013. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil from onion (*Allium cepa L.*). *Food. Control.* 30 (1): 48-53.

- Zafra, R. Q., Cruz, C. N., Ramírez, M. E., Delgado, O. L., Villanueva, S. J. y Alanís, G. E. 2013. Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. *Ultrasonics. Sonochem.* 20 (5): 1283–1288.
- Zamora, S. J. 2007. Antioxidantes micronutrientes en la lucha por la salud. *Rev. Chilena. Nutr.* 34 (1): 1-23.
- Zapata, M. L., Gerard, L., Davies, C., y Schvab M. 2007. Estudio de los componentes antioxidantes y actividad antioxidante en tomates. *Ciencia. Docencia y Tecnología.* XVIII (35): 173-193.